Roger FAVRE
Interne des Hôpitaux

55

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DES MÉTHODES D'IMMUNOTHÉRAPIE ANTITUMORALE ACTIVE SPÉCIFIQUE

Thèse pour le Doctorat en Médecine

Marseille le 21 Mars 1972

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545820_0005

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DES MÉTHODES D'IMMUNOTHÉRAPIE ANTITUMORALE ACTIVE SPÉCIFIQUE

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine de Marseille

LE MARDI 21 MARS 1972

PAR

Roger FAVRE

Né le 3 Octobre 1943 à MARSEILLE (B.-du-Rh.)

Interne des Hôpitaux
Maître en Biologie Humaine (Cancérologie expérimentale)
Diplômé d'Hématologie

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Examinateurs de la thèse	M. le Professeur X. SERAFINO	Président
	M. le Professeur P. LAVAL	Assesseurs
	M. le Professeur R. SIMONIN	
	M. le Professeur Agrégé Y. CARCASSONNE	
	M. le Professeur Agrégé H. BONNEAU	

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

FACULTÉ DE MÉDECINE DE MARSEILLE

PERSONNEL ADMINISTRATIF

Doyen : H. ROUX.

Doyen honoraire : G. MORIN.

Assesseurs : G. SERRATRICE, H. PAYAN, R. DEPIEDS et R. DEVIN.

Attaché principal, Responsable des services administratifs : P. MOUCHET.

Professeurs honoraires : MONGES J., ROCHE, MATTEI, de VERNEJOUL, GIRAUD, MARONNEAUD, PIERI, BLANC, MOSINGER.

PERSONNEL ENSEIGNANT

PROFESSEURS TITULAIRES

MM.	APPAIX	*Clinique oto-rhino-laryngologie*
	AUDIER	*Clinique médicale B et gérontologie*
	BERNARD R.	*Clinique médicale infantile*
	BOUDOURESQUES ..	*Clinique de neurologie*
	BOUYARD	*Pharmacologie*
	BRAHIC	*Bactériologie et virologie*
	CARCASSONNE F. ..	*Clinique chirurgicale*
	CARCASSONNE M. ..	*Chirurgie pédiatrique*
	CHARPIN	*Clinique pneumo-phtisiologique*
	CORRIOL	*Physiologie*
	DEPIEDS	*Immunologie*
	DERRIEN	*Chimie biologique*
	DESANTI	*Médecine sociale*
	DEVIN	*Séméiologie chirurgicale*
	DONNET	*Médecine expérimentale*
	DOR	*Clinique de chirurgie thoracique*
	DUBOULOZ	*Physique*
	DUCASSOU	*Clinique urologique*
	FARNARIER	*Ophtalmologie*
	GASTAUT	*Anatomie pathologique*
	GERARD	*Thérapeutique*
	GRANJON	*Pathologie chirurgicale*
	GRISOLI	*Anatomie*

HADIDA	*Clinique dermatologique*
HENRY	*Anatomie appliquée et chirurgie expérimentale*
HOUEL	*Chirurgie thoracique et chirurgie du cœur*
IMBERT	*Chirurgie générale*
JAYLE	*Clinique ophtalmologique*
JOUVE	*Clinique cardiologique et cardiologie expérimentale*
JULLIEN	*Médecine légale et médecine du travail*
LACHARD	*Clinique stomatologique*
LAFFARGUE	*Anatomie pathologique*
LAMY	*Clinique chirurgicale*
LAVAL	*Physiopathologie des voies respiratoires*
LEGRE	*Electroradiologie*
LENA	*Clinique chirurgicale C générale et vasculaire*
LISSITZKY	*Biochimie médicale*
MONGES H.	*Clinique des maladies des voies digestives et de la nutrition*
MONGIN	*Séméiologie médicale*
MORIN	*Physiologie*
MOUREN	*Pathologie interne*
OLMER	*Clinique médicale thérapeutique et des maladies du sang*
ORSINI	*Pédiatrie*
PAILLAS	*Clinique neuro-chirurgicale*
PAYAN	*Anatomie pathologique*
PENE	*Clinique exotique*
PICARD	*Histologie et embryologie*
RANQUE	*Parasitologie*
RAYBAUD	*Clinique des maladies infectieuses*
RECORDIER	*Clinique rhumatologique*
ROUX	*Physique médicale*
SALMON	*Clinique chirurgicale infantile et orthopédie*
SARLES	*Gastro-entérologie*
SAUTET	*Hygiène et médecine sociale*
SERAFINO	*Clinique et épidémiologie des cancers*
SERMENT	*Clinique obstétricale et gynécologique*
SIMONIN	*Clinique médicale*
STAHL	*Histologie et embryologie*
SUTTER	*Clinique psychiatrique*
TAMALET	*Microbiologie*
TEMIME	*Dermato-vénéréologie*
TISSIE	*Oto-rhino-laryngologie*
TRIFAUD	*Clinique chirurgicale orthopédique et réparatrice de l'adulte*
VAGUE	*Clinique d'endocrinologie*

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM. BERNARD P.-M.
CHEVROT
DALMAS
DUMON
GASCARD
GEVAUDAN
MM. GUERINEL
Mme JOUVE
MM. LOUIS
MURATORE
NICOLI
PLASSE
MM. ROLLAND
SALAMON
TATOSSIAN
TOGA
VITRY
ZWIRN

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

MM. ACHARD
ARGEME
BAILLE
BARDOT
BATTESTI
BAURAND
BERGOIN
BERNARD P.-J.
BIMAR
BONNEAU
BOUTIN
BOUYALA
BOYER J.-B.
BUISSON
BUREAU
CARCASSONNE Y.
CARTOUZOU
CHARREL
CLAUSTRE
CLEMENT J.-P.
CLEMENT R.
CODACCIONI
COMBALBERT
COTTE
DELBOY
DERLON
MM. DOR
DUFOUR
FARISSE
FIGARELLA J.
FRANÇOIS
FOURNIER
GABRIEL
GALINIER
GARCIN
GAUTHIER
GIRAUD F.
GRIMAUD
HUGUET
IMBERT Paul
JOUGLARD
KAPHAN
KHALIL
LEBREUIL
LOUCHET
MALMEJAC Cl.
MERCIER Cl.
METGE
MICHEL-BECHET
MIRANDA
MONTIES
MURISASCO
MM. OLMER M.
OHRESSER
PADOVANI
PIANA
PICAUD
Mlle PINSARD
MM. POGGI
PRIVAT
QUILICI
RAYBAUD C.
REBOUD
RICHAUD
ROHNER J.
ROUX H.
RUF
SARACCO
SARLES J.
SEDAN
SEITE
SERRATRICE
SOULAYROL
SPITALIER
Mlle STRIGLIONI
MM. TARANGER
TORRESANI
VAGUE Ph.

AGREGES EN EXERCICE

M. BRICOT

M. MONGES André

AGREGES LIBRES

MM. BERARD
BERTHIER
BREMOND
BOURRET
CASANOVA
CHAUVIN

MM. COIGNET
COMITI
COURBIER
FIGARELLA
GAMBARELLI
GARES

MM. JEAN
MICHOTEY
OLLIVIER
OURGAUD
PAOLI

(Liste mise à jour le 5 octobre 1971.)

A MA MERE

Tu resteras pour moi un modèle de simplicité et d'amour. Puisse cette thèse t'apporter l'hommage de ma profonde affection.

A MA FEMME

Avec un courage exemplaire, tu m'as aidé à supporter les difficultés et les embûches des études médicales et des concours hospitaliers. Ton aide dans la rédaction de ce travail est considérable. Pour tout ce que je te dois, je considère que nous soutenons cette thèse ensemble.

L'harmonie de notre amour me rend souvent la vie agréable et facile. Pour ce privilège rare et pour ton dévouement, je te remercie.

A MA FILLE, ODILE

Trésor inestimable, tu me fais découvrir tous les jours les joies et le bonheur du monde merveilleux de l'enfance.

A MON PERE, A MON FRERE ET A MA SŒUR

A MES NEVEUX, PIERRE, EMMANUEL ET ALAIN

A MA BELLE-FAMILLE

A TOUS LES MIENS

Au Docteur Georges MEYER

Ce travail, Monsieur, est le vôtre. Vous avez pendant plus de trois ans guidé mes pas dans le domaine difficile de la recherche scientifique. Vous n'avez ménagé ni votre temps, ni votre patience.

Trouvez ici le témoignage de ma reconnaissance, de mon fidèle attachement, et, si vous me le permettez, de mon amitié.

A Madame Monique MOUREN

L'ensemble de mes expériences a toujours bénéficié de votre grand savoir, de votre habileté et de votre gentillesse.

Je vous prie de trouver dans cette thèse l'expression de mes remerciements sincères.

A mon Maître et Président de thèse,

Monsieur le Professeur Xavier SERAFINO

Directeur du Centre Régional Anti-Cancéreux de Marseille
Professeur de Clinique et d'Epidémiologie du cancer
Officier de la Légion d'Honneur

Vous m'avez fait le très grand honneur de bien vouloir présider mon Jury de thèse.

Interne au Centre Régional Anti-Cancéreux de Marseille, j'ai eu le privilège de vous voir prendre la Direction de cet Etablissement. Depuis, vous m'avez fait l'insigne honneur de vous intéresser à ma carrière et à mes recherches.

Soyez remercié pour tout ce que vous avez fait pour moi. Je vous dédie ce travail de cancérologie expérimentale en témoignage respectueux de ma reconnaissance.

A mes Maîtres et Juges.

A Monsieur le Professeur Paul LAVAL

Professeur de Physiopathologie des voies respiratoires

Vous représentez pour moi le Médecin tel que je voudrais l'être, à la fois par votre sens clinique, votre esprit scientifique et votre amour du malade. Interne dans votre service, j'ai toujours admiré l'élégance de votre jugement.

Trouvez dans ce travail l'expression de mon attachement et de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Roland SIMONIN

Professeur de Clinique Médicale

J'ai été votre interne pendant une année où vous avez été pour moi un exemple de simplicité et d'efficacité qui n'ont d'égales que votre compétence et la sûreté de votre diagnostic. Vous avez, dès le début de mon internat, su orienter ma carrière avec beaucoup de gentillesse.

Je ne vous en serai jamais assez reconnaissant.

A Monsieur le Professeur Agrégé Y. CARCASSONNE

Médecin des Hôpitaux - Chef de Service

Dès mes premiers stages hospitaliers, j'ai pu apprécier votre haute culture scientifique et clinique. Par la pittoresque clarté de votre enseignement, vous avez su me donner le goût de l'Hématologie. J'espère pouvoir encore profiter de vos conseils éclairés dans l'exercice de ma profession.

Vous êtes pour moi un Maître très cher à qui je ne dirai jamais assez ma reconnaissance et mon admiration.

A Monsieur le Professeur Agrégé Henry BONNEAU

Biologiste des Hôpitaux - Chef de Service

Mon très cher Maître, dès le début de mon internat, vous m'avez accueilli dans votre service de recherche. Par vos conseils, par votre exemple, par votre appui, j'ai pu acquérir ma formation de chercheur. Mon ambition serait de m'en montrer digne pour que vos efforts soient récompensés.

Croyez en ma profonde gratitude pour avoir permis la réalisation de mon rêve de jeune étudiant en Médecine.

A mes Maîtres dans les Hôpitaux.

Messieurs les Professeurs : BERNARD P.-M.

BONNEAU H.

BOUTIN C.

CHARPIN J.

LAVAL P.

LUCCIONI F.-P.

PAOLI J.

RAYBAUD A.

SERAFINO X.

SIMONIN R.

TARANGER J.

Chez qui j'ai eu l'honneur d'être Externe ou Interne.

Vous avez tous tenté de m'apprendre à soigner des malades et non des maladies.

A Monsieur le Professeur André STAHL

Au Docteur Jean-Marie LUCIANI

Qui, avec beaucoup de gentillesse, m'ont permis d'effectuer un stage au Laboratoire de Cytogénétique de la Faculté de Médecine de Marseille.

A mes Maîtres de l'Université de Paris.

A Monsieur le Professeur Raymond LATARJET

A mon arrivée au Laboratoire de Recherche du Centre Régional Anti-Cancéreux de Marseille, votre travail m'a été présenté comme l'idéal vers lequel je devais tendre. Je me suis rapidement rendu compte de tout le bien-fondé de cette opinion.

Croyez à ma reconnaissance pour l'intérêt que vous avez toujours pris aux travaux de recherche de notre service.

A Messieurs les Professeurs : Georges MATHE

Jean-Louis AMIEL

Louis SCHWARZENBERG

et à toute l'équipe de l'Institut de Cancérologie et d'Immunogénétique

Vous m'avez appris ce qu'est la cancérologie expérimentale, ce qu'est l'immunothérapie. J'espère en ce travail n'avoir pas trahi votre enseignement. Croyez à toute ma reconnaissance pour l'accueil bienveillant que vous m'avez toujours réservé.

A Monsieur le Professeur Jérôme LEJEUNE

et à toute l'équipe de l'Institut de Progénèse

Vous m'avez appris avec une grande compétence les subtilités de la cytogénétique. Votre Institut représente pour moi un modèle d'organisation scientifique et de travail cohérent. Croyez à l'expression de mes respectueux remerciements pour le séjour agréable que j'ai eu l'honneur d'effectuer dans votre Laboratoire.

A mes Amis André BAGARRY

André EBAGOSTI

Jean-Pierre FAVRE-TROSSON

Grâce à vous j'ai eu le plaisir de découvrir l'amitié en même temps que l'art médical. C'est avec une grande joie que je retrouve en vous la franche camaraderie des années de Faculté. Vous êtes mes amis les plus chers.

Au Docteur Jean-Pierre KLEISBAUER

A Monsieur Roland POIRIER

Compagnons d'internat, amis sûrs avec lesquels je partage les soucis et les joies de la recherche médicale, croyez en ma fidèle amitié.

A Monsieur P. BOURRELY

Je te remercie pour les longues heures que tu as consacrées à me faire découvrir les « plaisirs » de l'analyse statistique.

Aux Docteurs Gérard COCHET

et Anne-Marie LHERISSON-STRABONI

Vous restez pour moi les pionniers du service de recherche du C.R.A.C.M. Trouvez dans ce travail le témoignage de mon amitié et de la reconnaissance que l'on doit à ses aînés.

A Mademoiselle Lydia PONS

A tous les techniciens, secrétaires, employés du service de Recherche et du service de Biologie du C.R.A.C.M.

A mes camarades de recherche, dont la collaboration a été si fructueuse. Avec mes remerciements.

Monsieur le Docteur Jean-Pierre CESARINI
Madame Catherine de MICCO
Monsieur Philippe de MICCO
Madame Marie-Anne NOSNY-CHRESTIAN
Mademoiselle Marie-Rose MARTIN
Madame Christiane VERRIER
Mademoiselle Françoise BIRG
Mademoiselle Monique BEREBBI

A Monsieur le Docteur Henry-Pierre BONNEAU
Assistant d'Anatomopathologie,

dont j'ai pu apprécier l'amitié au cours du C.E.R.B.H. de cancérologie expérimentale.

Aux assistants du laboratoire d'Anatomo-Pathologie et du laboratoire d'Hématologie du C.R.A.C.M. :

Madame Denise ROUQUETTE-GRISOLI

Madame le Docteur Danièle ROBERT-VAGUE

Monsieur le Docteur Gérard INGENITO

Au Service d'iconographie du C.R.A.C.M. :

A Messieurs Jacques INGRAND, Philippe CARPENET et Michel GUIN, à qui le département de cytogénétique humaine doit tant.

A Mademoiselle Marie HOUEL

Aux organismes ayant permis ce travail grâce à leur soutien matériel.

— Au groupement des Entreprises Françaises de Lutte Contre le Cancer (G.E.F.L.U.C.).

A Monsieur le Professeur Robert de VERNEJOUL, Président d'honneur du G.E.F.L.U.C.

A Monsieur Alexandre OLIVA, Président du G.E.F.L.U.C.

— A la Ligue Nationale de Lutte contre le cancer

A Monsieur le Professeur Antoine LACASSAGNE, son Président, *in memoriam*.

Probably no subject in medecine in this century has undergone such radical changes as immunity to malignant disease.

Gordon HAMILTON-FAIRLEY F.R.S.P. (307)
Professor of oncology at the St Bartholomew's Hospital, London.

INTRODUCTION

HISTORIQUE

PREMIERE PARTIE

Bases et modalités de l'immunothérapie.

I - LES BASES

A - L'antigénicité des cellules cancéreuses.

B - La réaction de l'hôte.

C - Place de l'immunothérapie dans l'ensemble de la thérapeutique anticancéreuse.

II - LES MODALITES

Différents types d'immunothérapie.

DEUXIEME PARTIE

Expérimentations personnelles.

I - LE MATERIEL UTILISE.

II - LES EXPERIENCES REALISEES.

CONCLUSIONS

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

La prévention et la lutte contre le cancer peuvent se concevoir (152),
— *soit en améliorant les possibilités de diagnostic, en particulier de diagnostic précoce,*

— *soit en perfectionnant les thérapeutiques classiques,*

— *soit en trouvant de nouvelles voies de traitement.*

Etant tout particulièrement intéressé par la lutte contre le cancer, nous avons effectué la moitié de notre internat au Centre Régional Anti-Cancéreux de Marseille (C.R.A.C.M.), sous les directions successives des Professeurs J. PAOLI et X. SERAFINO.

Aussi bien dans le Service Clinique de notre Maître, le Professeur P. LAVAL, que dans le Service de Biologie Clinique et de Recherche de notre Maître le Professeur H. BONNEAU, l'importance croissante d'une nouvelle thérapeutique nous est rapidement apparue : l'immunothérapie. La nécessité d'asseoir nos possibilités thérapeutiques en clinique humaine sur des résultats expérimentaux fut d'emblée évidente.

Nous avons donc été accueilli dans le Service d'Immunologie et d'Expérimentation animale que dirige avec compétence le Docteur G. MEYER. Bénéficiant de sa bienveillante direction scientifique, nous avons pu réaliser un certain nombre d'expérimentations animales sur un sujet qui nous était cher.

Nous rappellerons, après un bref historique, les bases fondamentales de l'immunothérapie antitumorale et ses modalités. Puis après avoir exposé les résultats de notre expérimentation, nous tenterons de dégager, à la lumière des travaux actuels, les perspectives de cette thérapeutique.

HISTORIQUE

On peut, assez arbitrairement d'ailleurs, diviser cet historique en trois parties.

A - Première période, celle des pionniers :

Premiers essais de sérothérapie et d'injections d'extraits tumoraux.

Bien avant que la preuve d'une réaction immunologique de l'hôte contre sa tumeur soit faite, de nombreux essais de thérapeutique à visée immunitaire ont été entrepris.

Dès 1895, HÉRICOURT J. et RICHET C. (347) traitèrent plus de 100 patients cancéreux avec des sérums de chien et d'âne. Ces animaux avaient reçu des émulsions de tumeurs humaines. Les résultats n'ont pas été publiés ; cependant, à la deuxième conférence internationale pour l'étude du cancer, en 1910, VIDAL E. (757) signale quelques régressions, mais subjectives et transitoires.

En 1901, DAR L. (151) signale une régression de trois semaines chez deux patients atteints de mélanome malin et traités avec un antisérum de chèvre. Cet animal avait été immunisé avec les deux tumeurs humaines.

Le premier essai de traitement immunitaire autre que sérothérapique est dû à LEYDEN E. et von BLUMENTHAL F. en 1902 (438). Ces auteurs ont traité deux malades atteints de cancer avancé, avec des filtrats de leur propre tumeur. L'évolution de la maladie fut inchangée, mais quelques « glandes » semblèrent diminuer de volume.

De nombreux essais similaires ne montrèrent le plus souvent que des résultats nuls ou subjectifs et ininterprétables. Ainsi BERTRAND L. en 1909 (66) obtient une « réponse clinique favorable à la vaccination » d'un patient cancéreux.

Par contre, ROSWING T., en 1910 (645), ne remarque aucun effet thérapeutique d'homogénats tumoraux autologues, phénolés injectés à 17 malades. Par la même technique que ROSWING T., BETTI O., en 1911 (69) observe une régression d'un cancer du sein. Mais cette observation est ininterprétable, car d'autres thérapeutiques ont pu apporter le bénéfice transitoire observé. Toujours avec la même méthode, aussi bien RISLEY E.H. en 1911 (641) que COCA A.F. et coll. en 1912 (131) n'obtinrent de meilleurs résultats.

Les essais de Stammler (707-787), de Pinkus A. et de Kloninger W. (614) paraissent meilleurs, mais peu interprétables en raison des thérapeutiques associées et du peu de temps d'observation normalement nécessaire pour apprécier l'effet d'un traitement.

Les trois observations de Lunckenbein (447), publiées en 1914, sont par contre très explicites. Utilisant toujours des extraits autologues, par voie intraveineuse, cet auteur n'a remarqué aucun effet thérapeutique, ni objectif, ni subjectif.

Le premier travail important de traitement immunitaire par extraits tumoraux fut rapporté en 1914 par Vaughan J.W. (755) : 200 patients furent traités mais 100 seulement furent retenus, leur survie permettant une appréciation de l'effet thérapeutique après un an. De plus, l'auteur traita 88 patients en associant les extraits tumoraux à des sérothérapies. Il est vrai que, si les résultats de Borrel A. en 1903 (92) n'avaient pas été encourageants, les divers essais de sérothérapie montraient toujours que quelques malades bénéficiaient de ce type de thérapeutique (Vidal E. en 1910, Lucatello L. et Malcon C., Odier en 1913 et Berkeley W.N. en 1914) (56 - 446 - 557 - 578).

Vaughan J.W. a utilisé des sérums de lapin et de mouton immunisés par différentes tumeurs. Les malades recevaient presque toujours des extraits tumoraux de patients différents et des sérums d'animaux ayant été immunisés avec des tumeurs autres que celle du malade traité.

De plus, l'auteur pensa que les sérums devaient être prélevés chez le mouton au moment où la « leucocytose mononucléaire » que présentait cet animal était maximale (754).

Dans de nombreux cas, il y aurait eu des améliorations notables. Mais là encore les résultats sont difficilement analysables, l'évolution paraît inchangée et surtout de nombreux cas de néphrites aiguës post-sérothérapiques firent arrêter ces essais.

B - **Deuxième période :**

Premiers essais d'injections de cellules tumorales.

Peut-être à cause de ces accidents, le plus souvent mortels, il fallut attendre 1922 pour retrouver de nouvelles publications sur la thérapeutique immunitaire du cancer. Kellock T.H., Chambers H. et Russ S. (383) rapportèrent le premier essai par injections de cellules néoplasiques autologues irradiées. La dose de rayons X de 2 Rad était considérée comme nécessaire pour tuer les cellules, mais insuffisante pour supprimer leur pouvoir antigénique. Sur les 30 malades traités, aucune amélioration ne fut notée.

Ce n'est qu'en 1927 que Linström G.A. (443) publie un nouvel essai de sérothérapie. Dix patients atteints de leucémie myéloïde chronique reçurent un sérum de lapin ou de mouton immunisé avec les leucocytes du malade traité. Parfois les sérums étaient absorbés sur des érythrocytes pour diminuer leur effet hémolytique. Cinq améliorations nettes sont obtenues, mais les malades étaient aussi traités par radiothérapie et chimiothérapie (arsenic).

Ensuite, plusieurs auteurs signalent quelques « recettes » qui pouvaient être intéressantes. Figari F., en 1930 (212), utilise des « ultrapeptones » de tumeurs variées. Rubens-Duval H., en 1932 (649), préconise l'utilisation des extraits tumoraux selon des méthodes homéopathiques. Denabias S., en 1933 (565), pense que les extraits enzymatiques seraient plus actifs. En fait, cette même année, Laborde (415) montre que ces thérapeutiques n'ont pas de valeur. Les résultats obtenus depuis le début du siècle sont bien décourageants. Cette constatation pessimiste vient s'ajouter aux quelques essais négatifs de sérothérapie destinés à lutter contre les éventuels microorganismes responsables du cancer en utilisant les sérums semblables à ceux de Doyen ou de Schmidt.

Braunstein A., en 1933 (98), Blumenthal F. et coll., en 1936 (78), firent chez la souris les premiers essais de stimulation des défenses non spécifiques. Ils obtinrent chez cet animal une leucocytose mononucléaire après administration par voies orale et parentérale d'extraits de rate et autres viscères. Cette technique appliquée à l'homme ne donna aucun résultat.

Ensuite, de 1938 à 1957 (157), de nombreux sérums stimulant le système réticulo-endothélial furent utilisés (comme le A.C.S. : antireticular cytotoxic serum). Les résultats obtenus ne furent pas meilleurs. On retiendra surtout les noms de Fedyushin M.P. en 1938 (207), Bogomoletz A.A. en 1939 et 1943 (80, 81), de Marchuk P.D. en 1943 (464), de Pomerat C.M. en 1945 (28, 616, 617), de Straus R. en 1946 (726, 727), de Nauts H.E. (568) et Skapier J. (687) en 1947 et Koressios N.T. en 1956 (410).

En 1951, Stone H.B. et coll. (724) relancent les essais d'immunisation de l'hôte par sa propre tumeur. Cet auteur a traité des nodules métastatiques de trois patientes opérées pour cancer du sein en implantant des fragments tumoraux autologues. Ces fragments étaient auparavant conservés à —20° C de 5 à 23 jours. Il n'y eut pas d'effet thérapeutique, mais chez une malade une greffe tumorale due au fragment implanté.

En 1953, Kidd J.G. (385) signale que certaines tumeurs transplantables de souris ou de rat ont leur croissance diminuée par du sérum de cobaye. L'auteur pense que ce sérum contient un principe inhibiteur, le T.I.P. (tumour inhibiting principle), mais n'arrive pas à l'isoler. (On saura plus tard qu'il s'agit de la *L. Asparaginase !*) (176).

C - **Troisième période :**

Les travaux de FOLEY E.J. et l'expérimentation moderne.

En fait, cette année 1953 ouvre la période moderne de l'étude de l'immunothérapie. FOLEY E.J. (222) démontre que les cellules cancéreuses chimio-induites sont porteuses de néoantigènes. C'est la première fois que la preuve que l'hôte peut avoir une réaction immunitaire contre sa tumeur est apportée. Comme nous le verrons, ces travaux sont complétés par ceux de PREHN R.T. (618) et HABEL K. (285), SJÖGREN H.O. (675, 676) et KLEIN G. (390).

Dès 1955, GRAHAM J.B., GRAHAM R.M. (254, 255) essaient de traiter 114 malades par des extraits cellulaires, des suspensions, des fragments cellulaires. Ces auteurs multiplient les voies d'injections (intradermiques, intramusculaires). Ils rajoutent un adjuvant de l'immunité, l'adjuvant de Freund.

Chez quelques patients, leurs résultats ne sont pas négligeables. Mais WITEBSKY E. et coll. (785), en 1956, n'obtiennent aucun effet thérapeutique avec des extraits tumoraux similaires. Il est vrai que les auteurs avaient sélectionné des malades porteurs de cancers avancés.

Parallèlement, dès 1956, des substances, sollicitant des réactions immunitaires non spécifiques comme le Zymosan et surtout le B.C.G. (366, 601, 96, 592, 583, 417, 418) manifestent dans certains systèmes expérimentaux des propriétés antitumorales. Nous verrons les applications que ces découvertes ont reçues.

En 1958 et 1959, les premiers travaux sur les défenses de l'hôte ont montré une éventuelle baisse de celles-ci, notamment une baisse de la Properdine (570, 613).

SPICER D.S. et coll., en 1959 (706), ont essayé de traiter cinq enfants avec une fraction de sérum humain à haute activité de Properdine sans succès. BOLANDE R.P. (83), puis SOUTHAM C.M., en 1959 (699), avaient d'ailleurs démontré que la Properdine n'avait aucun effet sur les cellules tumorales humaines en culture.

Dès 1957, THOMAS E.D. et coll. (741) proposèrent les greffes de moelle comme thérapeutique supplémentaire de certains cancers. Comme nous le verrons, cette possibilité thérapeutique a été particulièrement étudiée par l'école de G. MATHÉ (470, 471), mais aussi par d'autres auteurs.

C'est en 1957 que de nouveaux travaux reprirent sur l'utilisation de sérums. GRACE J.T. et coll. (251) obtiennent des régressions de lésions leucémiques de la peau par injection locale de sérum de lapin immunisé avec des extraits de ganglions lymphatiques du malade.

Moore G.E. et coll. (546) utilisent, sans résultat, les globulines humaines commercialisées.

Vial A.B. et Callahan W. (756) traitèrent des patients atteints de mélanome malin par des sérums de lapins immunisés avec de la mélanine extraite des tumeurs. Les sérums étaient marqués par de l'iode 131 radioactive. Aucune régression tumorale ne fut notée, de plus un seul malade avait un marquage radioactif au niveau de sa tumeur.

Nungester et coll. (576), en remplaçant la mélanine par les cellules entières, auraient obtenu une régression durable d'un mélanome. Le malade traité ainsi est mort 8 ans après d'un infarctus du myocarde. L'autopsie ne révéla aucun processus tumoral.

Muray G., en 1958, traita 233 malades avec des globulines sériques de chevaux immunisés avec de nombreuses tumeurs humaines. L'auteur signale 24 survies à un an mais d'autres thérapeutiques peuvent être responsables de ce résultat.

Buinauskas P. et coll., en 1959 (101), et Nazarenko N.A., en 1960 (569), avec des méthodes similaires, ont eu des résultats moins brillants.

Brittingham T.E. et Chaplin H., en 1960 (99), peut-être pour éviter les accidents dus aux sérums animaux, utilisèrent des globulines humaines spécifiques. Pour cela, ils immunisèrent un donneur volontaire avec les cellules leucémiques (L.M.C.) du malade à traiter. Le résultat fut insignifiant.

Par contre, Sumner W.C. et Foraker A.G. (729) obtinrent une régression d'au moins 5 ans d'un mélanome malin en employant du sang entier d'un sujet ayant eu une régression spontanée du même type de tumeur. Ces auteurs utilisèrent le sang entier pensant apporter au malade à la fois l'immunité à médiation humorale et l'immunité à médiation cellulaire.

Toujours en 1960, Lewison E.F. et coll. (437) injectèrent des extraits de cancers humains dans les mamelles de vaches pleines. Après les travaux de Petersen W.E. et Campbell B. (606) sur les anticorps du colostrum, ils espéraient que le lait des vaches ainsi traitées pourrait avoir un effet thérapeutique sur des cancers du sein. Il n'en fut rien.

Finney J.W. et coll. (219) n'obtinrent pas d'effet intéressant en associant des extraits tumoraux autologues ou des sérums animaux avec l'adjuvant de Freund.

Cinander B. et coll., en 1961 (125), réussirent à obtenir une rémission durable chez une femme porteuse d'un chorio-carcinome placentaire en la traitant par des injections de leucocytes de son mari et de sérum de lapin immunisé avec du sperme de son mari.

Ce dernier résultat souligne, comme nous le verrons, l'importance des réactions immunitaires de l'hôte.

Cet historique nous montre, il faut le reconnaître, les nombreux déboires de l'immunothérapie des cancers, surtout dans la première moitié du siècle.

Actuellement, appuyés sur une expérimentation animale plus précise, les résultats obtenus sont parfois plus encourageants. Au cours de ces dix dernières années, les différents auteurs ont essayé de classer les divers types d'immunothérapie pour mieux apprécier l'effet antitumoral obtenu. Nous verrons dans le chapitre suivant que cet effort permet une vue plus ordonnée de cette thérapeutique nouvelle, comme l'a souligné l'école de MATHÉ G. Ces études précises nous permettent de séparer l'immunothérapie d'autres traitements qui sont très intéressants comme par exemple les traitements interférenciels mis au point par LATARJET R.

PREMIÈRE PARTIE

I - Les Bases

II - Les Modalités

I. - LES BASES

A - L'antigénicité des cellules cancéreuses

a) la notion de néoantigène

b) les différents néoantigènes

c) remarques

d) nature des néoantigènes

B - La réaction de l'hôte

a) les mécanismes généraux de l'immunité

b) réactions de l'hôte contre sa tumeur

C - Place de l'immunothérapie dans l'ensemble de la thérapeutique anticancéreuse

a) action sur les agents carcinogènes

b) action sur les cellules tumorales

c) éventuelles thérapeutiques d'avenir

A - L'ANTIGENICITE DES CELLULES CANCEREUSES

a) La notion de néoantigène

L'immunothérapie ne se conçoit que si la cellule cancéreuse est porteuse de motifs antigéniques différents des cellules normales de l'hôte (25, 109, 110, 160, 257, 315, 367, 765). Cette antigénicité peut être le témoin de la présence de l'agent cancérigène inducteur lui-même. C'est le cas par exemple de certains antigènes mis en évidence par la technique d'immunofluorescence (137, 651) de façon précoce le plus souvent, après transformation virale *in vitro* (226, 292, 319, 340, 433, 537, 647). Il s'agit ici des capsides virales (297). Ce type d'antigène a d'ailleurs pu être retrouvé dans certaines tumeurs humaines (KLEIN G., 402).

Mais une antigénicité nouvelle peut apparaître avec la transformation maligne sans que l'on retrouve l'agent inducteur (111, 124, 134, 197, 393, 629, 650, 750). Tous les cancérologues admettent aujourd'hui que les cellules cancéreuses peuvent porter ces NEO-ANTIGENES (395, 400, 430, 555, 588, 793). Les premiers travaux expérimentaux sérieux ont démontré la néo-antigénicité des tumeurs expérimentales chimio-induites grâce à FOLEY (222), puis à PREHN et MAIN (618, 621, 622), SJÖGREN, HELLSTRÖM et KLEIN (675, 676), d'une part, et HABEL (284, 285, 288, 289), d'autre part, ont montré ensuite que les cellules tumorales viro-induites expérimentales portaient des néo-antigènes.

D'emblée, les deux types d'antigénicité se sont opposés : les néo-antigènes chimio-induits étant spécifiques de la tumeur (623, 624) et les néo-antigènes viro-induits étant spécifiques du virus (166, 290, 405, 554, 680, 681, 682, 683). Plusieurs tumeurs chimio-induites sur un même animal ont chacune un néo-antigène différent (35, 36, 37, 38, 238, 390, 458, 552, 581, 734). Il n'y a pas de réaction croisée pour les tumeurs induites par le même agent chimique (40, 42, 43, 44, 45, 149, 305). Cela, en fait, ne semble pas illimité, pour un même agent, il semble y avoir une quinzaine d'antigènes différents et en multipliant les combinaisons, on finit par trouver des réactions croisées (360, 636, 637). Par contre, les tumeurs induites par le même virus portent le même néo-antigène même si les animaux récepteurs sont d'espèces différentes (323).

Cette notion est capitale, car elle permet des études épidémiologiques (342, 401). Mais nous verrons que c'est à partir de ces constatations que nous proposons une immunothérapie nouvelle pour les tumeurs solides.

En fait, dans une revue générale récente (402), KLEIN G. a souligné la généralisation des néo-antigènes dans tous les types de tumeurs expérimentales chimio et viro-induites, mais aussi induites par les agents

physiques (cellophane, radiations, etc.) (41, 325, 343, 392). Cet auteur divise d'ailleurs ces tumeurs en deux groupes :

— le groupe où il n'y a pas de réactivité croisée comprenant les tumeurs induites par les agents chimiques et physiques,

— et le groupe où il y a des réactions croisées qui est celui des tumeurs viro-induites.

Certains néo-antigènes ont été mis en évidence sur des cellules tumorales humaines (6, 9, 100, 112, 113, 185, 188, 201, 252, 279, 352, 364, 366, 371, 444, 452, 466, 516, 530, 642, 690, 691, 702, 703, 704). Cette classification laisse entrevoir une possibilité de rechercher l'étiologie des tumeurs humaines (46, 79, 259, 399, 412, 553, 593, 610, 693, 700, 701, 758).

b) Les différents néoantigènes

Il existe à l'heure actuelle trois grands groupes de néo-antigènes.

— Le premier groupe est celui d'un antigène mis en évidence, soit par immunofluorescence, soit par la méthode de déviation du complément (95, 168, 221, 291, 585). Par immunofluorescence, il s'agit d'un antigène retrouvé dans le noyau des cellules (286, 287, 509).

On regroupe à l'heure actuelle de façon certaine ces deux antigènes mis en évidence par deux techniques différentes. De plus, l'antigène nucléaire immunofluorescent se retrouve aussi bien dans les cellules transformées que dans les cellules subissant une infection virale banale (cycle lytique). Ces remarques ont une incidence sur la nomenclature de ce néo-antigène qui peut être nommé de plusieurs façons :

« I.C.F.A. » : Induced Complement Fixing Antigen.

Immunofluorescence :
- « T. Antigen » : cycle lytique.
- « Tumour Antigen » : — cycle transformant — cellule tumorale.
- « Early Antigen » E.A. : cycle transformant productif (232, 233, 234).

— Le deuxième groupe est celui des antigènes de membrane (54, 368, 439, 459, 740). Ils sont mis en évidence par la technique d'immunofluorescence. On en connaît au moins deux types : les antigènes de membrane à proprement parler et les antigènes de type Forssman. (« Membran Antigen » et « Forssman Antigen ».)

— Le troisième groupe est le plus important puisque de la présence d'un antigène de transplantation dépend l'efficacité de toute immunothérapie. On met en évidence un antigène de ce type *in vivo* (donc sur l'animal) T.S.T.A. « Tumour Specific Transplantation Antigen » ou

depuis peu T.A.T.A. « Tumour Associated Transplantation Antigen » (359, 398, 409). Après une immunisation, un animal rejette une greffe de cellules tumorales, greffe acceptée par un groupe témoin non immunisé (30, 31, 121, 154, 231, 242, 322, 324, 380, 391, 513, 684). Il est par exemple possible d'immuniser des hamsters adultes par une injection de virus polyome (84, 165, 311, 312, 313, 314, 372, 440). Ce virus oncogène n'est pas tumoral pour des animaux adultes normaux, mais ces derniers vont rejeter une greffe de cellules tumorales de hamsters, cellules transformées par le virus polyome. Il faut remarquer que ce mode d'immunisation est un peu obscur puisque les cellules tumorales ne portent plus d'antigène cytoplasmique viral qui aurait pu être responsable du phénomène de rejet. Certains auteurs pensent qu'il y a des cellules qui sont transformées lors de l'injection virale, mais leur nombre restreint et la maturité immunologique de l'animal adulte font qu'elles sont rejetées ; d'autres auteurs, comme MEYER G., pensent qu'il y a un vrai cycle abortif du virus avec présence de l'antigène de transplantation (ou antigène de rejet de greffe), puis véritable « guérison » de l'infection virale. L'animal s'immunise ainsi au cours de ce « cycle abortif » (389, 723). Ce cycle correspondrait au phénomène que l'on observe *in vitro* lorsqu'on étudie la cinétique de l'antigène de membrane après infection de cellules (B.H.K.$_{21}$ par du virus polyome) (167, 508).

c) Remarques

Ces faits entraînent deux remarques :

— La première est la parenté qu'il pourrait y avoir entre antigène de membrane et antigène de transplantation (T.A.T.A.). Quelques auteurs pensent qu'il s'agirait du même antigène, mais s'il est probable que la membrane est leur siège électif, MEYER G. a apporté des arguments contre leur assimilation (512, 514, 515).

— La deuxième est la présence des néo-antigènes en dehors du processus de cancérisation (406, 420, 730). MATHÉ G. a montré la présence d'une antigénicité nouvelle par la technique de greffe de peau sur des animaux traités aussi bien par des inducteurs chimiques (Diméthylbenzenthracène) (481) que par des virus leucémogènes (482).

Les phénomènes *in vivo* semblent correspondre aux différentes réactions cellulaires observées *in vitro*. Par exemple, pour les virus oncogènes, il est presque certain qu'un cycle abortif a lieu *in vivo*. Chez l'adulte, ce cycle se prolonge par une immunisation de l'animal. Chez le nouveau-né, la cellule sort du cycle abortif pour aller dans le cycle transformant malin. L'apparition de la tumeur est due au faible pourcentage de cellules tumorales (5 %) que n'a pas pu rejeter l'animal nouveau-né, immunologiquement immature. Cette règle a d'ailleurs des exceptions car pour les virus oncogènes à cycle transformant long ou entraînant une croissance tumorale longue (comme le SV$_{40}$), la répétition

des injections de virus oncogènes à partir de la naissance n'entraîne pas de cancérisation, mais au contraire une forte immunité de l'animal (171). Ce phénomène, connu sous le nom de Eddy-Deichmann, peut s'expliquer par des cycles abortifs successifs.

L'animal (hamster par exemple), immunologiquement compétent moins d'une semaine après sa naissance, s'immunise et rejette les cellules tumorales dont le nombre est encore limité. Ce phénomène n'existe pas avec des virus à pouvoir oncogène plus rapide comme le virus polyome (Meyer G., Cochet G. et coll. - 511).

d) **Nature des néoantigènes**

La nature exacte de ces néo-antigènes des tumeurs n'est pas encore connue ; mais certaines relations avec des antigènes embryonnaires disparaissant à la naissance ont été rapportées (349, 467, 631, 749). Ainsi, par exemple, Prehn a pu prévenir l'induction de tumeurs mammaires par des cancérigènes chimiques en préimmunisant les animaux par des tissus embryonnaires syngéniques. Chez l'homme, von Kleist S. et Burtin P. (404, 762, 763), Gold P. et Freedman S.O. (239), à la suite des travaux d'Abelev sur les hépatomes (2, 3, 4) ont pu montrer dans les tumeurs coliques l'existence d'antigènes identiques à ceux de la muqueuse colique embryonnaire (448).

On appelle tous ces antigènes des antigènes carcino-embryonnaires ou C.E.A. (carcino embryonic antigen). Certains auteurs pensent que les cellules tumorales porteuses de ces C.E.A. pourraient se développer car l'hôte ne les reconnaîtrait pas comme étrangères malgré ce néo-antigène (4). Il y aurait une tolérance induite par un déterminant antigénique identique présent pendant la vie embryonnaire. (Par exemple, présence d'anticorps anti-tumeur SV_{40} chez des hamsters femelles multigestantes.) (135, 189)

Ce raisonnement est logique et pourrait certainement expliquer certains échecs de l'immunothérapie et des défenses immunitaires anticancéreuses.

Des relations d'un grand intérêt sont aussi établies entre les néo-antigènes de certaines néoplasies et certains antigènes normaux. On a ainsi révélé un antigène particulier nommé T.L. (Thymus leucémie) sur les cellules de certaines leucémies spontanées ou induites de la souris, quelle que soit la lignée (29, 590, 592). Or, cet antigène est également trouvé à la surface des cellules thymiques de certaines lignées de souris (94). Il apparaît aussi dans les cellules leucémiques de lignées ne le possédant pas dans leur thymus normal (156). Cet antigène T.L. serait donc spécifique de la leucémie et serait aussi un composant normal du thymus. Ces deux exemples suggèrent que les antigènes décelés dans les cellules tumorales pourraient résulter d'une dérépression.

Ce n'est d'ailleurs pas le seul phénomène carcinologique pour lequel on est tenté de faire appel à ce mécanisme (82, 653).

Tous ces faits suggèrent qu'il n'est pas impossible que ces néo-antigènes ne soient liés qu'au contact du carcinogène et des cellules et ne dépendent pas du processus cancéreux (490). Si cette hypothèse était vraie, cela serait bien décevant pour l'immunothérapeute.

Une réponse pourra peut-être être apportée par l'utilisation de nouvelles techniques. L'emploi des lectines, comme la concanavaline A, a par exemple permis de montrer que les sites antigéniques de surface se réarrangeaient au cours de la transformation cellulaire. Cela signifie que l'agent transformant n'a induit que des rapports nouveaux entre des sites antigéniques habituellement présents sur la membrane cellulaire, mais n'a pas induit d'antigènes nouveaux (130, 600).

B - LA REACTION DE L'HOTE

La réaction immunitaire de l'hôte contre sa tumeur fait appel à un ensemble de mécanismes complexes.

Les travaux récents d'immunologie fondamentale ont permis d'entrevoir, non seulement la possibilité d'explications rationnelles de l'équilibre hôte-tumeur, mais aussi la possibilité d'un traitement immunitaire logique des tumeurs.

a) Les mécanismes généraux de l'immunité

Les mécanismes de l'immunité ont été particulièrement étudiés au cours de la réponse immunitaire primaire de souris immunisées avec des hématies de mouton (529, 737). Il est pratiquement établi qu'un précurseur médullaire de la lignée lymphocytaire est à l'origine des clones cellulaires responsables de la réaction immunitaire (224). Ce précurseur va se différencier dans le thymus (771) pour donner une cellule immunologiquement compétente non déterminée (527). Pour essayer d'unifier la terminologie, ces cellules thymo-dépendantes portent le nom de cellules T ou de lymphocytes T (594). On a démontré chez les oiseaux, surtout chez la poule, que le précurseur médullaire avait une seconde destinée (549, 550). Il existe chez la poule un organe lympho-épithélial à la partie terminale de l'intestin : la bourse de Fabricius. Cet organe est responsable de la capacité de formation des anticorps (768). Le précurseur lymphocytaire médullaire se différencie dans la bourse de Fabricius pour donner une cellule capable de synthétiser les anticorps (140, 237). Chez les oiseaux, il existe une opposition de fonction entre le thymus et la bourse de Fabricius (138, 767). La bursectomie néonatale entraîne la disparition de l'immunité à médiation humorale, alors que la thymectomie entraîne la disparition de l'immunité à médiation cellulaire (155). Cette conception schématique a permis une classification

plus rationnelle des déficits immunitaires congénitaux chez l'homme (382, 670). L'ensemble de ces faits a incité de nombreuses équipes à chercher l'équivalent de la bourse de Fabricius chez les mammifères. Malgré les nombreux travaux réalisés, on ne peut pas affirmer que cet équivalent ait été retrouvé. Reprenant des observations des anatomistes français (376, 377, 638), Good R.A. et coll. (32, 139, 602, 603, 604, 605) ont montré que cet équivalent bursique pourrait se retrouver chez le lapin dans les organes lympho-épithéliaux digestifs (appendice iléo-coecal, sacculus retundus et plaques de Peyer) (202, 210). Mais chez la souris, par des expériences aussi significatives que celles réalisées chez le lapin Miller J.F.P.A. et Mitchell G.F. (539) ont montré que l'équivalent de la bourse de Fabricius se trouvait au niveau de la moelle osseuse (1).

Une seule chose semble certaine, c'est l'existence de l'équivalent de la bourse de Fabricius chez les mammifères. Dans ces conditions, les cellules dépendant de cet équivalent portent le nom, volontairement vague, de cellules B ou de lymphocytes B (B étant l'initiale de Bourse ou Bone marrow).

Ces deux types de lymphocytes T et B, dépendant d'un précurseur médullaire, vont interagir entre eux et avec les cellules macrophagiques (cellules A) pour qu'une réponse immunitaire normale puisse avoir lieu (531, 532, 534, 574). Ces différents lymphocytes ont une recirculation permanente. Ils sont recrutés au cours des réponses immunitaires (59, 73). L'ensemble de ces interactions cellulaires porte le nom de coopérations cellulaires (557, 562).

Il existe un premier type de coopération cellulaire entre les cellules A et les lymphocytes T (748). Les cellules A, macrophagiques, captent l'antigène et transmettent l'information antigénique aux cellules T immunologiquement compétentes non déterminées (128, 216). Le mode de transfert est encore inconnu, mais il est pratiquement certain qu'un ARN joue un rôle important (34, 640, 783). Les lymphocytes T ainsi informés, ainsi déterminés, vont pouvoir interagir avec les lymphocytes B (126, 127, 244, 463), puis se transformer en cellules mémoire (250, 529).

De très nombreuses expériences ont montré que ces lymphocytes T avertis coopéraient avec les lymphocytes B (225, 235, 369, 528, 535, 538, 615), ces derniers synthétisant les anticorps spécifiques (735, 737). Dans le cas de la réponse à médiation humorale, les cellules B sont les cellules effectrices (306, 520, 523, 525) (cf. figure n° 1).

Au cours de la réponse secondaire, les cellules mémoire sont capables de réagir directement avec l'antigène (536, 626). Ces lymphocytes T mémoire prolifèrent (541) et interagissent avec les lymphocytes B qui produisent ainsi des anticorps (381, 627) (cf. figure n° 1). La réponse secondaire est beaucoup plus rapide que la réponse primaire (effet amnanestique ou « Booster effect »). Cette rapidité s'expliquerait par l'absence de la première coopération cellulaire entre lymphocytes T et cellules A. L'intensité de la réaction est aussi plus importante (375). Ce dernier

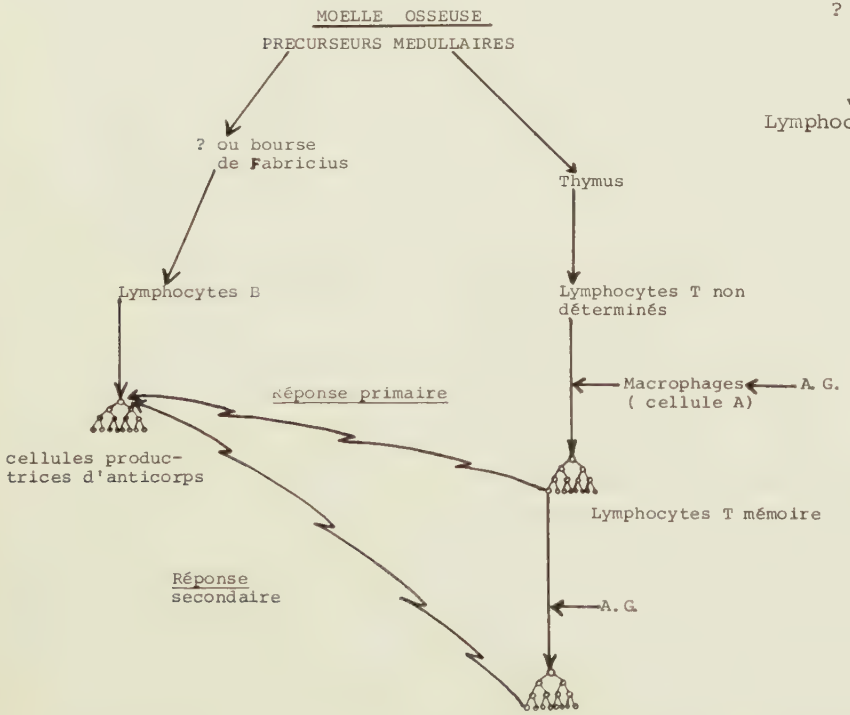

FIGURE N° 1

Différentes coopérations cellulaires (A, T, B) au cours de l'immunité humorale d'après CAZAL (117).

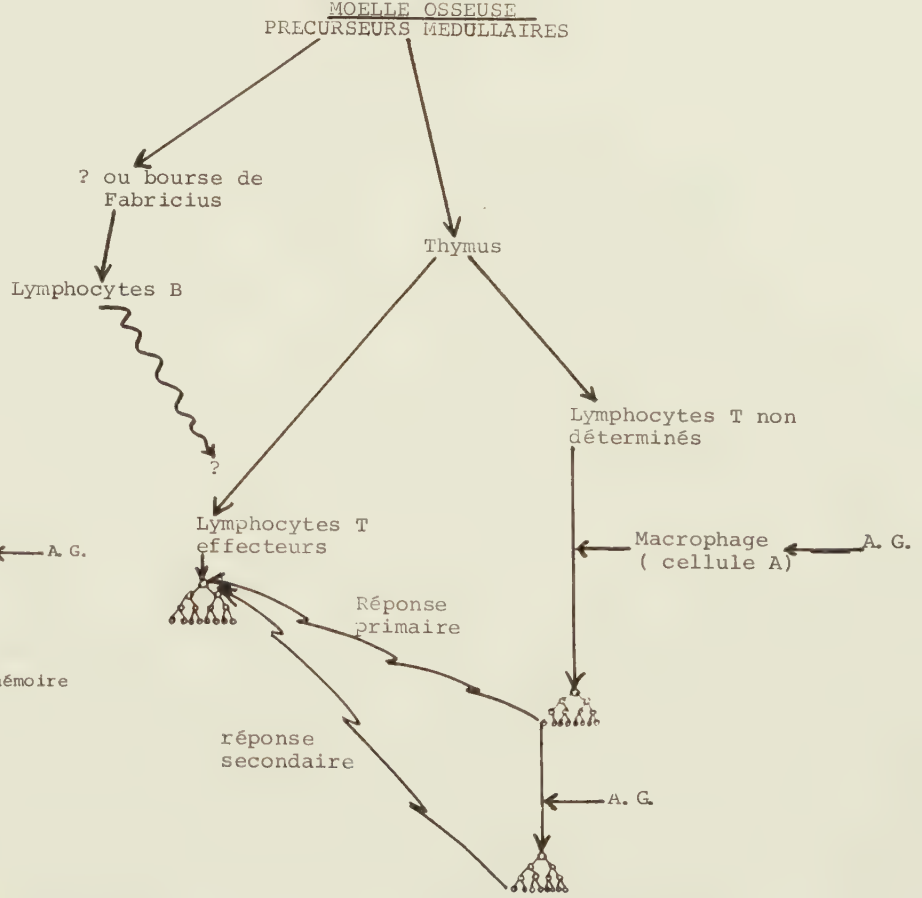

FIGURE N° 2

Différentes coopérations cellulaires possibles au cours de l'immunité à médiation cellulaire.

fait s'expliquerait par un plus grand nombre de cellules B recrutées. Ce plus grand recrutement serait la conséquence de la prolifération des lymphocytes mémoire.

Les mécanismes de l'immunité à médiation cellulaire sont moins bien connus (431) (hypersensibilité de type retardé, rejet de greffe).

Au cours de la réponse primaire, le début de la réaction paraît identique aux phénomènes précédents. Il y a une coopération entre cellules A et lymphocytes T.

Il existerait cependant deux types de lymphocytes T : les lymphocytes T effecteurs de la réponse immunitaire et les lymphocytes T avertis après la coopération avec les cellules A. Ces lymphocytes T avertis interagiraient avec les autres lymphocytes T (119, 469). Les lymphocytes T avertis se transformeraient ensuite en lymphocytes mémoire (cf. figure n° 2).

Au cours de la réponse secondaire, les lymphocytes mémoire interagissent directement avec l'antigène permettant ainsi une plus grande rapidité d'expression des mécanismes immunitaires (cf. figure n° 2).

Il existerait une coopération entre les lymphocytes T et les lymphocytes B, mais son mécanisme est encore inconnu (50, 348). Par contre, GOLSTEIN Pierre, du Karolinska Institutet, a montré que les lymphocytes B ne sont pas nécessaires pour l'immunité à médiation cellulaire. Cet auteur a mis en évidence un récepteur sigma, déterminé par les cellules A sur les lymphocytes T (communications personnelles faites au Docteur MEYER G.).

b) Réactions de l'hôte contre sa tumeur

Des travaux récents ont montré que l'ensemble des mécanismes immunitaires est sollicité au cours de la réaction de l'hôte contre sa tumeur (336).

Par la technique d'inhibition de colonie, puis de cytotoxicité, on a montré que les lymphocytes de l'hôte étaient capables d'inhiber le développement *in vitro* de cellules tumorales correspondantes (12, 53, 179, 308, 327, 332).

En utilisant ces techniques de culture *in vitro* de cellules tumorales, on met en évidence dans certains cas un effet cytotoxique du sérum en présence de complément (345, 559, 587, 776). Le rôle de ces anticorps cytotoxiques n'est pas encore connu *in vivo*. Certains auteurs pensent qu'ils pourraient avoir un effet préventif contre l'éclosion des métastases (33, 240, 435). Des études plus récentes accordent à ces anticorps un rôle plus important contre la prolifération tumorale (16).

Il existe donc une réaction à médiation cellulaire et une réaction à médiation humorale capables toutes les deux d'avoir un effet anti-tumoral (24, 123, 132).

Chez l'animal, l'évolution des tumeurs peut être différente selon le cas. Ainsi pour le papillome de Shope (198, 329) ou pour les tumeurs murines induites par le virus de Moloney (331, 333), on observe des tumeurs qui se développent (animaux « progressor ») et des tumeurs qui, après s'être développées, régressent (animaux « regressor »). Ces différences restaient inexpliquées jusqu'à ce qu'on utilise les techniques d'inhibition de colonie et de cytotoxicité mises au point par HELLSTRÖM K.E. (334). Le sérum des animaux « progressor », rajouté à une culture de cellules tumorales en contact avec des lymphocytes du même animal, permet la croissance tumorale (245, 326, 328, 344, 591). Le sérum empêche donc l'action cytotoxique des lymphocytes. HELLSTRÖM K.E. pense que le sérum des animaux « progressor » contient des anticorps bloquants (330). Le sérum des animaux « regressor » ne présente pas d'effet bloquant (15, 333). Des résultats semblables ont été reconnus dans d'autres systèmes expérimentaux (49, 153, 686) et chez l'homme (337, 436). Si ces résultats sont justes, l'hôte est capable de s'immuniser et de réagir contre sa tumeur grâce à une réaction à médiation cellulaire qui peut se compléter parfois par une réaction à médiation humorale (anticorps cytotoxiques).

Il existerait une compétition entre l'activité cytotoxique des lymphocytes effecteurs et l'activité bloquante d'anticorps non cytotoxiques. Lorsque cette deuxième réaction humorale l'emporte, les anticorps bloquent les lymphocytes et permettent la croissance des cellules tumorales. Mais il faut remarquer que d'autres auteurs n'ont pas retrouvé des résultats aussi nets que ceux de HELLSTRÖM K.E., que ce soit KLEIN E. dans le système du virus de Moloney ou DEFENDI V. dans le système du SV_{40} (communications personnelles faites au Docteur MEYER G.).

Ces anticorps bloquants sont comparables aux anticorps facilitants que l'on espère utiliser pour éviter le rejet d'un organe transplanté (64, 542, 584, 760, 761).

La présence d'anticorps bloquants a été retrouvée en dehors des processus tumoraux. Ce type d'anticorps pourrait être responsable de la survie de chiens chimériques permanents (335, 619) ou d'embryons allogéniques (72) (c'est-à-dire le cas le plus habituel). Des expériences ont été réalisées sur des embryons résultant de l'union d'une souris femelle BALB/C avec un mâle C_3H (72). Ces embryons devraient être rejetés si un phénomène n'empêchait pas les réactions immunitaires de s'exprimer.

Classiquement, le placenta joue le rôle d'une barrière (148). Mais il renferme des interstices, des pores par lesquels les lymphocytes pourraient passer (733). De plus, les lymphocytes d'une souris ayant eu

plusieurs grossesses avec des mâles d'une autre lignée que la sienne sont immuns aux antigènes paternels de l'embryon (695). L'utilisation de la technique d'inhibition de colonie a permis de montrer que des anticorps bloquants empêcheraient les lymphocytes immuns de la mère de détruire les cellules embryonnaires.

Il semblerait que les anticorps bloquants soient produits lorsque la stimulation antigénique augmente progressivement à partir d'une quantité minime d'antigène. C'est le cas du développement d'une tumeur ou d'une grossesse allogénique ; c'est aussi sur ce principe que s'effectuent les désensibilisations spécifiques en allergologie (65, 3, 445), dont l'efficacité semble liée aux taux des anticorps bloquants (671, 696).

A côté de ces anticorps bloquants, HELLSTRÖM K.E. a montré qu'il pourrait aussi y avoir des anticorps débloquants. En fait, tous ces résultats ont été obtenus *in vitro* et ne sont peut-être que la conséquence d'inhibition de compétition entre les lymphocytes et les anticorps humoraux d'une part et les anticorps humoraux entre eux, d'autre part (752).

La connaissance de la nature du facteur bloquant sérique permettra peut-être d'expliquer l'inhibition des lymphocytes immuns sans faire appel à des anticorps nouveaux. Ce facteur bloquant semble être un complexe antigène-anticorps (685). Ce complexe bloquerait la réaction lymphocytotoxique en inhibant le lymphocyte par son pôle antigénique et les cellules tumorales cibles par son pôle anticorps. Cette hypothèse suppose que des antigènes se détachent des cellules tumorales pour s'unir aux anticorps sériques sans que cette union entraîne une destruction. La proportion entre lymphocytes, complexes antigène-anticorps et anticorps libres pourrait guider la réaction de l'hôte. Si les complexes antigène-anticorps sont en grand nombre, on assiste à une prolifération tumorale; si les lymphocytes et les anticorps libres sont en grande quantité par rapport aux complexes bloquants, la tumeur régresse.

En résumé, comme le montre la figure n° 3, l'ensemble de ces résultats a conduit HELLSTRÖM K.E. à formuler l'hypothèse séduisante d'un équilibre immunitaire entre l'hôte et sa tumeur (172). Cette hypothèse, peut-être fausse ou incomplète (387), a le grand mérite de souligner l'aveuglement avec lequel nous pratiquons l'immunothérapie tant expérimentale que clinique (408). Nous ne sommes capables que d'observer le résultat final, c'est-à-dire l'inclinaison du plateau de la balance du côté de la tumeur (facilitation) ou du côté de l'hôte (rejet de greffe). Ce schéma permet donc de comprendre les résultats surprenants que l'on obtient parfois (par exemple facilitation inattendue ou régression tumorale spontanée) (729). Il est certain que le jour où le thérapeute pourra solliciter une réaction à médiation cellulaire seule, ou orienter, dans le sens désiré, la réaction à médiation humorale, un énorme progrès sera réalisé. Mais il faut encore être très prudent car les résultats obtenus par HELLSTRÖM K.E. ne permettent d'établir que des hypothèses de travail. De nombreuses confirmations sont encore nécessaires.

C - PLACE DE L'IMMUNOTHERAPIE DANS L'ENSEMBLE DE LA THERAPEUTIQUE ANTICANCEREUSE

La thérapeutique du cancer pose depuis très longtemps de nombreux problèmes. Deux entités se dressent devant le thérapeute : la tumeur qu'il faut détruire, l'hôte qu'il faut protéger (205). Jusqu'à ces dernières années, tous les traitements s'attaquaient directement à la tumeur. Après la découverte de la néo-antigénicité liée à la cellule cancéreuse, on a essayé de renforcer les défenses immunitaires naturelles de l'hôte. Cette dernière arme est l'IMMUNOTHERAPIE. Elle vient s'ajouter à la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie.

Notre but est d'essayer de replacer l'immunothérapie dans l'arsenal thérapeutique dont dispose ou dont disposera le cancérologue.

a) Action sur les agents cancinogènes

Comme nous le voyons sur la figure n° 4, deux thérapeutiques principales peuvent agir directement sur les agents cancérigènes :

— la prévention,

— et les traitements interférenciels.

La prévention essaie de soustraire les sujets à l'exposition aux radiations ou aux agents chimiques cancérigènes connus (67, 199, 218, 309, 526, 586, 661).

Les traitements interférenciels ont déjà été appliqués à l'homme (38, 426, 608, 705) grâce à la technique mise au point par LATARJET R. dans le système expérimental souris AKR-virus de GROSS (87, 424, 425). Ce type de traitement est fondamentalement différent de l'immunothérapie puisqu'il empêche un nouveau cycle de cancérisation virale par interférence isologue (388, 598, 599, 625, 674, 743, 744), soit directe, soit indirecte par l'intermédiaire de l'interferon. L'interferon a d'ailleurs permis la guérison de certaines leucémies virales expérimentales en s'opposant à l'action du virus oncogène (260 à 267, 751, 775, 776, 777). Mais les extraits tumoraux acellulaires, employés dans le « traitement de LATARJET », véhiculant les particules virales hypothétiques pourraient avoir des propriétés immunothérapeutiques. BONNEAU H. et coll. ont ainsi montré que les extraits acellulaires de tumeurs homologues pouvaient avoir un effet antitumoral de type immunitaire chez le hamster doré. Les extraits tumoraux étaient préparés selon la méthode de LATARJET R. et irradiés par les rayons ultra-violets (87).

La complexité de ces traitements entraîne parfois une confusion dans la compréhension de leurs modes d'action. Nous pensons que les phénomènes interférenciels et immunologiques peuvent s'intriquer à propos d'un protocole thérapeutique précis, mais qu'il serait incorrect de les

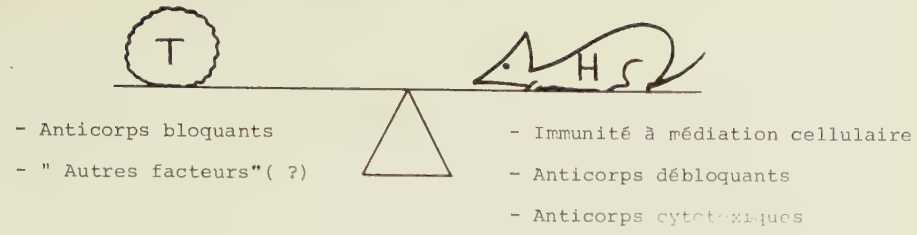

FIGURE N° 3

Equilibre immunitaire hôte-tumeur
(HELLSTROM K.E.)

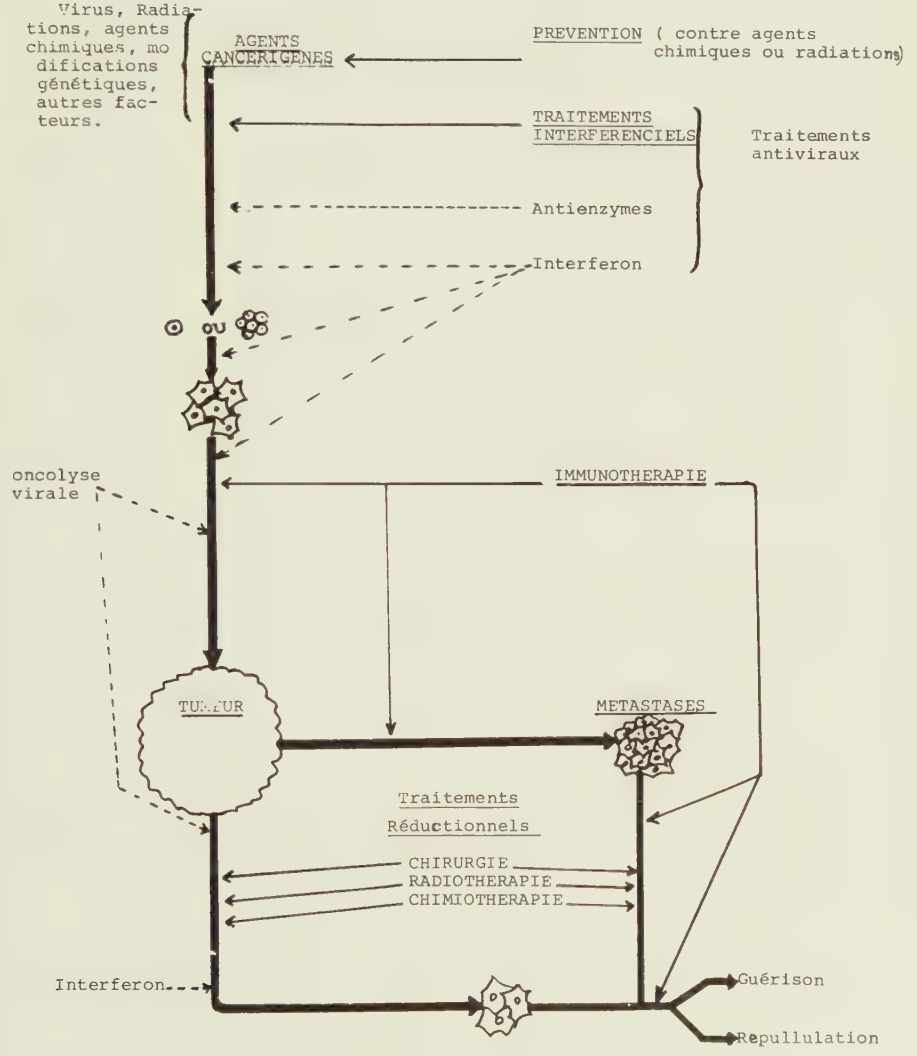

FIGURE N° 4

Différentes thérapeutiques anticancéreuses.

assimiler. La séparation des fonctions oncogènes et infectieuses d'un virus permettra peut-être une utilisation efficace de ce type de thérapeutique (241).

Néanmoins, l'application en clinique humaine de cette thérapeutique permet parfois d'obtenir des résultats inattendus (426, 705). Bonneau H. et coll. ont rapporté leurs résultats sur 41 cas de tumeurs humaines (88). Certains cas, rapportés dans la thèse de Peyronnel J.-C. (608), ont actuellement plus de 5 ans de survie.

b) Action sur les cellules tumorales

Que les agents cancérigènes transforment une ou plusieurs cellules à la fois, on assiste à un développement cellulaire plus ou moins rapide se traduisant par une tumeur constituée. Nous possédons actuellement trois types de thérapeutiques principales contre cette tumeur :

— Tout d'abord, l'ablation chirurgicale qui peut, dans certains cas privilégiés, enlever toute la tumeur, mais ne permet pas d'agir sur les éventuelles métastases passées inaperçues.

— Ensuite la radiothérapie qui, actuellement, est un excellent traitement, mais qui ne peut pas, dans la plupart des cas, détruire toutes les cellules cancéreuses ; quelle que soit la dose, il reste toujours un certain pourcentage de cellules malignes (ce type de traitement obéit aux lois de la cinétique de premier ordre).

— Enfin la chimiothérapie qui, excepté dans des cas particuliers où la réaction immunitaire de l'hôte est importante (17, 58, 103, 104, 105, 106, 107, 114, 341, 394, 396, 397, 453, 476, 573, 580, 745, 780), ne peut pas non plus prétendre à la destruction complète du tissu cancéreux.

Ces trois types de traitements, que l'on peut appeler *réductionnels,* ont donc le plus souvent besoin d'une réaction de l'hôte pour achever l'élimination des cellules malignes. Les réactions immunitaires naturelles sont dans certains cas suffisantes pour obtenir une guérison, mais généralement, il faut renforcer ces défenses, ce qui est le but de l'immunothérapie.

Il est donc évident que cette quatrième arme du cancérologue ne peut pas, pour l'instant peut-être, réaliser une thérapeutique isolée, ce traitement ne pouvant agir que sur un nombre restreint de cellules. Son action pourra être bénéfique en luttant contre la repullulation tumorale après l'action d'un traitement réductionnel ou contre l'éclosion de métastases cliniquement latentes. On peut remarquer que, théoriquement, l'immunothérapie pourrait être utilisée au début du développement du tissu cancéreux (et non pas la chimiothérapie comme ont pu le proposer certains auteurs). Mais pour cela, il faudrait pouvoir reconnaître les néoplasies de taille très réduite. D'ailleurs, il n'est pas impossible que la production de cellules cancéreuses soit permanente chez un

sujet normal. Les réactions immunitaires naturelles détruiraient alors ces cellules anormales, antigéniquement distinctes des cellules normales, au fur et à mesure de leur formation. La « maladie cancéreuse » (174) pourrait résider dans la déficience de ces réactions de l'hôte. L'immunothérapie est le premier traitement qui s'attaque au « cancer maladie » plutôt qu'à la tumeur. Mais actuellement ce type de thérapeutique n'en est encore, surtout pour les tumeurs solides, qu'à ses balbutiements.

c) Eventuelles thérapeutiques d'avenir

Pour être complet, nous devons brièvement exposer trois autres possibilités thérapeutiques :

— La première est une conséquence logique de la découverte de Temin H.M. sur le mode d'intégration du génome des virus à A.R.N. dans le génome des cellules qu'ils vont transformer (230, 258, 460, 517, 739, 744).

Pour cette intégration, trois enzymes spécifiques sont nécessaires, or des dérivés de certains composés chimiques (comme la Rifampycine) seraient capables *in vitro* d'inhiber ce phénomène. Ces composés encore trop toxiques *in vivo* pourraient peut-être, plus tard, être utilisés pour éviter un nouveau cycle de cancérisation (182, 558).

— La deuxième est l'utilisation de certains virus non oncogènes qui entraînent la destruction de la tumeur. Cette « Oncolyse virale » peut être de nature immunologique. L'infection virale permet le passage d'un système d'histocompatibilité faible à un système d'histocompatibilité fort (442).

Un second mécanisme peut exister : la lyse cytopathogène de la tumeur par le virus (oncolyse virale vraie) (116, 547). On assiste d'ailleurs en clinique humaine à quelques régressions tumorales passagères après infection virale (varicelle, hépatite virale, vaccination rabique...). Mais si les études expérimentales ont été prometteuses, les premiers essais cliniques ont rapidement découragé le thérapeute car les virus oncolytiques sont, soit très dangereux pour l'homme (virus des encéphalites), soit anodins, mais d'action antitumorale quasi nulle (773).

— La troisième résulte de la découverte récente des propriétés anticellulaires de l'interferon. Cette action a été démontrée *in vitro* (141, 217, 223, 273) et *in vivo* (268, 272) chez l'animal et certains auteurs proposent son utilisation chez l'homme (272). Bien qu'on n'ait pas trouvé de corrélation entre l'effet antitumoral du Poly I Poly C (769), on a aussi proposé l'utilisation des inducteurs d'interferon (177, 211, 434, 498, 635, 791, 792).

Ces trois possibilités thérapeutiques soulignent la richesse potentielle de l'arsenal du cancérologue. Néanmoins, elles ne peuvent pas encore être appliquées de façon courante en clinique humaine.

En résumé, nous pouvons essayer de classer les thérapeutiques anti-cancéreuses (figure n° 5).

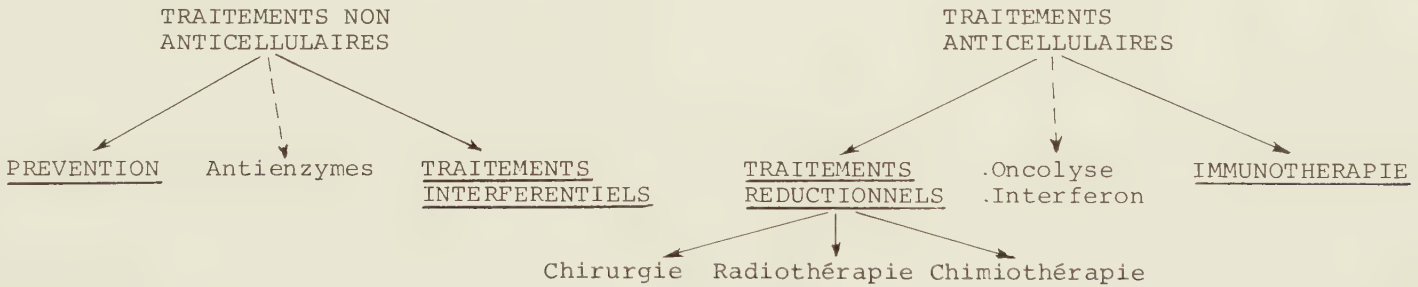

FIGURE N° 5

II. - LES MODALITES

DIFFERENTS TYPES D'IMMUNOTHERAPIES

A - **Immunothéarpie passive**

a) immunothérapie passive non spécifique

b) immunothérapie passive spécifique

B - **Immunothérapie adoptive**

a) immunothérapie adoptive non spécifique

b) immunothérapie adoptive spécifique

C - **Immunothérapie active**

a) immunothérapie active non spécifique

b) immunothérapie active spécifique

II. - LES MODALITES

DIFFERENTS TYPES D'IMMUNOTHERAPIES

Certains auteurs ont séparé deux grandes catégories d'immunothérapies : l'immunothérapie préventive et l'immunothérapie curative (485).

La première consiste à éviter ou à atténuer les effets immunosuppresseurs des thérapeutiques réductrices (chimiothérapie, hormonothérapie...). Ces conceptions ont révolutionné les tactiques thérapeutiques qui tiennent compte de l'état du tonus ou profil immunitaire du malade (489). Mais nous ne pensons pas qu'elles entrent *stricto sensu* dans le cadre de l'immunothérapie.

Nous ne développerons donc que l'immunothérapie curative que l'on divise en trois parties :

— passive,
— adoptive,
— et active (20, 173, 281, 353, 354, 355, 357, 457, 477, 479, 519, 654, 784).

A - IMMUNOTHERAPIE PASSIVE :

Pour les trois types d'immunothérapies, il existe deux catégories de méthodes : non spécifique et spécifique.

a) Immunothérapie passive non spécifique :

L'utilisation de gamma globulines non spécifiques par BERNARD J. (57) ou semi-spécifiques (sérum antilymphocytaire dans les L.L.C.) par CHAUVERGNE et coll. (122) n'a pas apporté de résultats encourageants.

b) Immunothérapie passive spécifique :

Elle est définie par le transfert à l'animal porteur d'une tumeur d'anticorps solubles (humoraux) fabriqués chez un autre animal contre cette même tumeur (56).

Les nombreux essais expérimentaux ont surtout été effectués sur les leucémies et les tumeurs induites par le virus polyome chez la souris (609, 656, 660, 709, 742), sur les sarcomes du rat (101, 407, 450, 540, 668), sur la tumeur de Brown et Pearce du lapin (386), l'érythroblastose et la lymphomatose des poules (108, 277) et les tumeurs induites par le virus polyome du hamster (195).

Les anticorps transmis doivent être dirigés exclusivement contre les antigènes spécifiques de la tumeur (26, 70, 246).

Ils sont préparés soit après injection, chez des animaux syngéniques, d'extraits antigéniques purifiés, soit en trouvant un système animal qui sélectionne lui-même ces antigènes et forme des anticorps spécifiques anticancéreux. Dans ce dernier cas, on peut essayer de rendre les animaux donneurs de sérum tolérants aux tissus normaux pour que l'administration du matériel tumoral ne provoque que la formation d'anticorps spécifiques. On peut aussi pour obtenir des anticorps spécifiques isolés essayer de supprimer les anticorps anti-tissus normaux en absorbant le sérum globalement antitumoral sur un tissu normal.

De nombreux animaux ont servi de donneurs de sérum (lapin, souris, cobaye, rat, mouton, cheval, vache, poulet), ainsi que l'homme. Les voies d'administration ont été les plus diverses (parabiose, intramusculaire, intraveineuse, intrapéritonéale). Les résultats obtenus, souvent très critiquables dans leur méthodologie, ne montrent qu'un effet antitumoral peu important ou moyen (229, 247, 248). En général, les injections de sérum (le plus souvent sérum entier) sont faites avant ou pendant la charge tumorale (274, 429, 571). Ces expériences de protection ne réalisent pas en fait véritablement une immunothérapie. Nungester et Fischer (575) ont d'ailleurs noté une importante diminution de l'effet de l'immunsérum administré 86 heures après la charge tumorale (48 heures après, le résultat était identique à celui obtenu par l'injection de l'immunsérum en même temps que la charge tumorale).

Si les résultats expérimentaux sont assez médiocres, l'immunothérapie passive spécifique est aussi dangereuse car elle peut entraîner des phénomènes de facilitation. Comme l'a souligné Motta R. (560), un progrès pourra peut-être permettre l'utilisation de ce type d'immunothérapie lorsqu'on pourra utiliser les anticorps cytotoxiques isolés.

Quelques essais en clinique humaine ont été entrepris (99, 115, 125, 437, 669, 738). De nombreux incidents ou accidents sont venus tempérer les ardeurs du thérapeute (548, 692, 729). Mathé G. et Amiel J.-L. ont signalé des phénomènes de facilitation chez des patientes atteintes de chorio-carcinome (17, 476). Les accidents rénaux sévères de la sérothérapie signalés par Vaughan (755), dès le début du siècle, ont été notés par La Pava et coll. en 1962 (419).

Plus récemment, des sérums antilymphocytaires ont été utilisés dans la leucémie lymphoïde chronique (484). L'animal donneur, le cheval, est immunisé avec des lymphocytes provenant de rate de sujets splénectomisés, de ganglions lymphatiques, mais aussi de sang périphérique de patients porteurs de leucémie lymphoïde chronique. Les résultats obtenus ne sont pas encourageants.

L'immunothérapie passive chez l'homme paraît donc, pour l'instant, une technique à ne pas utiliser, car ses dangers sont certains (200, 422, 689).

B - IMMUNOTHERAPIE ADOPTIVE

C'est l'injection de cellules immunologiquement compétentes qui vont lutter contre la tumeur, mais malheureusement aussi contre l'hôte.

On sépare là encore l'immunothérapie adoptive non spécifique et spécifique.

a) Immunothérapie adoptive non spécifique :

1° La greffe de moelle osseuse a été particulièrement étudiée expérimentalement par MATHÉ G. et coll. Après irradiation subtotale de souris F_1 DBA_2/Bl_6, la greffe de moelle osseuse entraîne une augmentation de la survie de ces animaux ayant préalablement reçu des cellules leucémiques DBA_2. On note même certaines guérisons, surtout si le nombre de cellules leucémiques injectées est bas. Mais, très souvent, les animaux meurent du syndrome secondaire dû à la réaction du greffon contre l'hôte (« runt disease » ou « maladie des avortons »). L'utilisation d'antimitotiques dans ce système restreint la réaction du greffon et permet une augmentation du nombre de guérisons.

Ce mode de thérapeutique a été utilisé dans de nombreux autres systèmes (51, 71, 178, 480, 746). Les résultats ont été très décevants pour la leucémie spontanée AKR où les morts par syndrome secondaire empêchent l'appréciation d'un effet thérapeutique éventuel. Les défenses immunologiques de cet animal sont très basses et il ne peut pas lutter contre la réaction de rejet de l'hôte par le greffon. Les défenses du sujet cancéreux sont souvent très basses et ce type de modèle expérimental souligne les dangers d'une telle thérapeutique. Dans d'autres systèmes de leucémies spontanées, les résultats sont meilleurs, c'est le cas par exemple de la leucémogénèse avec le virus de Charlotte FRIEND (473, 475).

2° Un autre type d'immunothérapie adoptive non spécifique est l'injection de cellules lymphoïdes après irradiation faible (471, 643). On assiste là encore à une augmentation de la survie, mais de nombreux animaux meurent de syndrome secondaire après prise de greffe comme après injection de moelle osseuse.

Certaines souris meurent guéries !

b) Immunothérapie adoptive spécifique :

Ce type de traitement a pour but d'augmenter la capacité antitumorale des cellules immunologiquement compétentes (C.I.C.) injectées, par une immunisation préalable du donneur. Les C.I.C. injectées pourraient donc reconnaître spécifiquement le T.A.T.A. et détruire plus rapidement les cellules tumorales. Théoriquement donc, on pouvait espérer accélérer le processus antitumoral pour lutter plus rapidement contre le syndrome secondaire.

Mais l'immunisation de donneurs par des cellules leucémiques n'apporte pas d'amélioration des résultats. Par contre, l'immunisation par des cellules normales qui donneront éventuellement des cellules leucémiques, augmente encore la durée de survie des animaux traités. Les antigènes normaux sont-ils plus efficaces que les néo-antigènes ?

Pour augmenter l'efficacité d'immunisation, les donneurs ont reçu des cellules xénogéniques portant le même T.A.T.A. que les cellules leucémiques. Dans ce système, les cellules xénogéniques ont été rejetées trop vite pour permettre une augmentation de l'efficacité de l'immunothérapie adoptive. Mais reprenant cette idée séduisante d'immunisation dans un système xénogénique, HADDOW et ALEXANDER (296) ont obtenu de meilleurs résultats en changeant le protocole expérimental. Ils ont traité des rats porteurs de sarcomes chimio-induits avec des C.I.C. xénogéniques de donneurs immunisés par des fragments de tumeur du receveur. Les cellules immunologiquement compétentes attaquent la tumeur, puis sont rejetées par l'hôte, ce qui évite le syndrome secondaire. Il faut remarquer qu'il y a eu deux essais cliniques (non publiés) de MATHÉ G., ALEXANDER P. et coll. appliquant ce principe d'immunothérapie adoptive. Deux sujets porteurs de mélanomes malins ont été traités par des cellules lymphoïdes de moutons immunisés contre les tumeurs des malades. Aucune régression n'a été observée, la tolérance était très mauvaise (fièvre, vomissement, hypotension). Cette mauvaise tolérance s'explique peut-être par l'immunisation du mouton contre les antigènes normaux du malade.

Avant de terminer la revue des études expérimentales de l'immunothérapie adoptive, nous devons rapporter les résultats encourageants obtenus par l'utilisation d'extraits riches en ARN. Il est possible de rendre compétentes ces cellules lymphoïdes par incubation avec des extraits riches en ARN préparés à partir d'autres cellules lymphoïdes obtenues d'animaux immunisés (215) ou après un contact *in vitro* (227, 461). Les cellules à partir desquelles sont préparés les extraits riches en ARN peuvent être des cellules syngéniques, allogéniques ou même xénogéniques. Ainsi DECKERS P.J., PILCH Y.H. et RAMMING K.P. (161, 163, 628) ont montré que des cellules spléniques syngéniques, incubées *in vitro* avec de l'ARN extrait de cellules lymphoïdes d'animaux (syngéniques ou xénogéniques) immunisés avec la tumeur à traiter avaient un effet antitumoral important. Avec ce système, il n'y a pas à craindre de réaction du greffon contre l'hôte puisque les cellules immunocompétentes sont syngéniques.

ALEXANDER P. et coll. (10) avaient observé un effet antitumoral spécifique similaire en utilisant de l'ARN extrait de cellules xénogéniques. Des moutons étaient immunisés avec une tumeur de rat. Des extraits bruts d'ARN de cellules lymphoïdes de mouton avaient un effet antitumoral intéressant lorsqu'ils étaient injectés directement aux rats porteurs de la tumeur à traiter. Ce résultat était intéressant puisqu'il n'était plus nécessaire de pratiquer une incubation de cellules immunocompétentes syngéniques. Mais, dans d'autres expériences (14), lorsque

les extraits ont été efficacement purifiés, l'effet antitumoral a été perdu. Apparemment dans les extraits bruts, l'ARN était protégé de la dégradation par le plasma et les ribonucléases intersticielles.

D'autres auteurs ont confirmé ces résultats expérimentaux (97, 384, 612), mais DECKERS P.G. et PILCH Y. (162) ont eu le mérite de montrer que l'utilisation d'un inhibiteur de la ribonucléase extracellulaire (sulfate sodique de Dextran) (208) conservait l'efficacité des extraits d'ARN même purifiés. (Les auteurs utilisent l'extraction au phénol à chaud). De plus, en utilisant chez la souris (C_3HF/HeN) plusieurs extraits correspondant chacun à une tumeur chimio-induite précise, ces mêmes auteurs ont montré la spécificité immunothérapique de l'ARN utilisé. (A chaque tumeur chimio-induite correspond un T.A.T.A. différent.)

Bien que ce système paraisse d'utilisation techniquement peu aisée dans la pratique courante, l'application à l'homme pourrait peut-être apporter des résultats aussi encourageants que ceux obtenus chez l'animal (DECKERS P.J. et PILCH Y.).

Il reste à savoir de quelles cellules provient exactement l'ARN employé ; car si ALEXANDER P. ne récoltait que les cellules lymphoïdes efférentes des ganglions (lymphocytes uniquement), DECKERS P. et PILCH Y. utilisent les cellules spléniques et ganglionnaires (lymphocytes et macrophages).

En résumé, plusieurs facteurs semblent guider l'utilisation expérimentale de l'immunothérapie adoptive :

— la tolérance des cellules lymphoïdes par l'hôte,

— le nombre de cellules leucémiques ou tumorales,

— le nombre de C.I.C. injectées. A ce propos, une expérience faite sur la leucémie $E\delta G_2$ (leucémie de type AK-virus de Gross chez une souris $C_{57}Bl_6$) montre qu'à nombre égal de C.I.C. l'immunothérapie adoptive spécifique serait plus efficace que la non-spécifique.

L'immunothérapie adoptive, surtout non spécifique, a été appliquée à l'homme avec des résultats souvent décevants, surtout à cause du syndrome secondaire (27, 474, 478, 486). Des tentatives d'allogreffes de moelle hématopoïétique après irradiation du receveur (527) se sont avérées plus nocives que les transfusions de globules blancs. Ces leucocytes ont été tout d'abord obtenus à partir de rates homologues prélevées pour des affections bénignes (789). Ensuite, on a obtenu les leucocytes à partir du sang de sujets atteints de leucémies myéloïdes chroniques ou de suspensions de lymphocytes. Ces cellules sont séparées par trieuse spéciale à partir du sang de donneurs normaux ou prélevées par cathétérisme du canal thoracique du malade ou de donneurs volontaires. Les transfusions de sang de leucémie myéloïde chronique donneraient de meilleurs résultats que celles utilisant des lymphocytes de donneurs normaux.

De rares essais d'immunothérapie adoptive spécifique ont été tentés chez l'homme (492, 499, 731, 753). Bien que critiquables sur le plan éthique pour certains auteurs, il faut citer les travaux de NADLER et MOORE (566). Ils ont entrepris l'immunisation réciproque de divers patients cancéreux échangeant leur tumeur, puis leurs leucocytes. Des résultats favorables auraient été obtenus pour certains cas de mélanomes malins.

On peut donc penser que l'immunothérapie adoptive chez l'homme reste une thérapeutique dangereuse, mais non sans intérêt. Il faut d'ailleurs signaler les résultats encourageants d'immunothérapie adoptive locale. Cette méthode empêche le contact des leucocytes transférés avec l'ensemble de l'organisme et évite ainsi les inconvénients qui en résultent. MATHÉ et coll. (487) ont obtenu des résultats appréciables par injection intrapleurale de lymphocytes de lapins immunisés dans le cas d'épanchements pleuraux hodgkiniens. TROUILLAS et LAPRAS (747) administrent des lymphocytes dans le lit tumoral après exérèse de glioblastomes cérébraux avec des résultats non négligeables.

C - IMMUNOTHERAPIE ACTIVE

Ce mode de traitement consiste à solliciter les réactions immunologiques naturelles de l'hôte contre sa tumeur. De nombreuses publications, tant expérimentales (118, 146, 187, 310, 361, 507, 620, 657, 714, 715) que cliniques (7, 8, 68, 136, 276, 356, 365, 416, 658, 663) ont montré que la plupart des néoplasies s'accompagnaient d'une baisse du tonus immunitaire (39, 716, 728). Ce tonus immunitaire peut d'ailleurs être diminué, voire annihilé par les thérapeutiques anticancéreuses elles-mêmes (radiothérapie, chimiothérapie) (18, 169, 483, 495, 644). Les tumeurs possédant une néo-antigénicité, l'hôte possédant des défenses immunitaires basses, il est donc théoriquement logique d'essayer d'augmenter les réactions immunitaires antitumorales (175, 522, 577, 607, 673).

Pour cela, deux types d'immunothérapies sont à la disposition de l'expérimentateur :

— l'immunothérapie active non spécifique,
— et l'immunothérapie active spécifique (47, 142, 358, 694).

a) Immunothérapie active non spécifique :

C'est l'utilisation de procédés qui augmentent la réponse immunologique. Ces procédés sont les adjuvants de l'immunité (76). Leur action est double (725, 732, 779) :

— action sur la forme physique de l'antigène (par exemple l'antigène soluble devient insoluble),
— et action biologique.

De nombreux adjuvants ont été utilisés pour leur action physique entraînant une prolongation de la présence de l'antigène. Un des gels les plus utilisés est l'Alun qui absorbe les antigènes solubles, mais on a aussi utilisé, par exemple, le phosphate acide de calcium chez l'homme. Mais, en carcinologie, c'est surtout des micro-organismes à action biologique nette qui ont été utilisés pour leur action sur les cellules immunologiquement compétentes. Les substances bactériennes entraînent la multiplication des cellules lymphoïdes et des cellules du système réticulo-endothélial en général. (Il faut remarquer, à ce propos, le rôle antitumoral éventuel de certains facteurs immunitaires non spécifiques sans que l'on connaisse la possibilité de leur sollicitation par les adjuvants de l'immunité.) (672, 697, 698)

Les principaux adjuvants sont le Zymozan, des bactéries Gram négatif (salmonelles, colibacilles...), les mycobactéries (bacille de Koch, B.C.G. ou *Mycobacterium butiricum* et *Mycobacterium phlei...*). Parmi les bactéries Gram positif, *Corynebacterium parvum* est un des adjuvants les plus intéressants (214, 572, 790) avec *Corynebacterium granulosum,* comme l'ont montré Raynaud M. et coll. (634).

Le mécanisme de l'action adjuvante de ces micro-organismes réside dans l'induction de la multiplication des cellules lymphoïdes (75). Après toute stimulation antigénique, cette multiplication se produit, et un antigène qui a peu d'information antigénique et beaucoup de pouvoir d'induction de multiplication est un excellent adjuvant (583). L'idéal serait un corps qui n'a pas de pouvoir antigénique et un énorme pouvoir d'induction de multiplication cellulaire. Pour tenter de mieux comprendre les mécanismes d'action des adjuvants de l'immunité et pour augmenter leur efficacité, on a essayé d'isoler une substance responsable de cette action. Il n'est pas impossible qu'elle soit commune aux différentes bactéries, mais en quantité plus ou moins grande, selon le cas. La substance active est un complexe peptido-glycolipidique acétylé (770, 778) extrait du bacille de Koch humain, et du B.C.G. (351), et qui se rapproche d'une cire, la cire D (350, 736).

Cette substance isolée possède certes une action adjuvante, mais malheureusement moins importante que des corps bactériens tués secs (à poids égal). La répartition de cette substance sur la paroi bactérienne semble avoir une importance sur l'effet obtenu, la dispersion diminuant cet effet.

On ne connaît pas encore très bien le type de réaction immunologique sollicité : immunité à médiation cellulaire, immunité à médiation humorale ou les deux. Mais on commence à en avoir une idée pour certains adjuvants comme l'adiuvant de Freund qui augmente préférentiellement la synthèse des IgA globulines par rapport aux IgG ; or si le schéma de Hellström K.E. est exact, il faut trouver des adjuvants augmentant préférentiellement les réactions immunitaires à médiation cellulaire plutôt qu'à médiation humorale (en attendant de solliciter, de façon spécifique, les anticorps humoraux cytotoxiques).

De nombreux essais expérimentaux ont montré l'action antitumorale des adjuvants de l'immunité (48, 74) comme *Mycobacterium parvum* et surtout le B.C.G. Par exemple, une administration de B.C.G. 14 jours avant l'injection de cellules leucémiques L_{1210} chez la souris entraîne un retard significatif de la mortalité. Dans un but curatif, c'est-à-dire après la charge tumorale, des injections répétées de B.C.G. ont aussi une action antileucémique sur les cellules L_{1210}.

Dans un autre système expérimental, celui de la leucémie $E\delta G_2$, ces résultats ont été confirmés par Amiel J.-L., aussi bien avec le B.C.G. (19) qu'avec *Corynebacterium parvum* (21). Dans ce dernier cas, l'optimum d'action se situe 4 jours avant la charge leucémique, l'utilisation de *Corynebacterium parvum* formolé ne diminue pas l'efficacité de cet adjuvant. De plus, Amiel J.-L. a montré qu'au-dessus d'un certain nombre de cellules tumorales, il n'y a plus d'action antileucémique. Ce chiffre est de 10^5 pour la leucémie $E\delta G_2$. C'est le chiffre qu'avaient trouvé Mathé et coll. pour la leucémie L_{1210}, chiffre qu'a confirmé Skipper.

Or, à moins de 10^8 cellules, il n'y a pas de possibilité de diagnostic de leucémie par les moyens cytologiques habituels. Il existe donc entre 10^5 et 10^8 cellules une zone aveugle où l'immunothérapie pourrait ne pas agir.

Dans le système expérimental de la leucémie $E\delta G_2$, Amiel J.-L. et Berardet M. (22) ont montré que la chimiothérapie annule les effets de l'immunothérapie non spécifique faite avant elle, mais que cette immunothérapie peut bénéficier de l'effet réducteur d'une chimiothérapie qui la précède.

A ce propos, ces deux auteurs ont montré les dangers éventuels de l'association de la chimiothérapie et de l'immunothérapie active non spécifique (23). L'administration simultanée de B.C.G. et de méthyl-hydrazine entraîne une insuffisance immunitaire plus profonde et plus durable que l'administration de méthyl-hydrazine seule.

Ce résultat souligne l'importance des recherches qu'il reste à faire pour trouver le moment optimal de l'utilisation de l'immunothérapie active non spécifique en fonction des autres thérapeutiques. L'équilibre hôte-tumeur de Hellström pourrait être influencé aussi bien dans un sens que dans l'autre par un même adjuvant de l'immunité selon le moment de son administration. La possibilité de solliciter un type d'immunité, soit à médiation cellulaire pour le cancérologue, soit à médiation humorale pour le transplanteur, pourrait être dans cette optique un résultat capital. Ainsi les expériences de Burg C., Donner M. et Oth D. (184, 595) ont montré que le B.C.G. augmentait de façon très significative la prise de la tumeur CB_2 chez des hybrides F_1. (La tumeur CB_2 est un rabdomyosarcome induit par le méthylcholanthrène chez une souris C_3H.) L'utilisation de cet adjuvant de l'immunité a

donc supprimé l'effet hybride (316, 597). Ce résultat est contraire à celui qui était attendu. Cette expérience est un très bon exemple du peu de maîtrise que l'expérimentateur peut avoir sur l'utilisation des modificateurs de l'immunité.

En résumé, on peut penser que l'immunothérapie active non spécifique peut être efficace :

— si les défenses de l'organisme ne sont pas trop effondrées,

— si le nombre de cellules n'est pas trop important,

— si le moment d'administration est bien choisi.

De nombreuses applications à l'homme ont été faites surtout dans le cas des leucémies. Mathé et coll. ont d'abord essayé l'adjuvant de Freund dans la maladie de Hodgkin, mais n'ont obtenu que des nécroses aux points d'injections. Ces auteurs ont abandonné cette méthode pour le B.C.G. appliqué sur de larges scarifications cutanées assez bien tolérées mais particulièrement inesthétiques. On utilise aussi *Bordella pertussis* (283), *Corynebacterium parvum, Mycobacterium Phlei,* la vaccine (102), la streptodornase, la streptokinase (713) et, en applications cutanées locales, certains produits chimiques, comme le dinitrochlorobenzène (D.N.C.B.) ou le 2,3,5 triéthylène, imino-benzoquinone (T.E.I.B.).

Les résultats ont pendant longtemps été discordants, voire ininterprétables, faute d'une méthodologie rigoureuse entre les divers auteurs. Actuellement, deux espoirs semblent se dégager. Le premier est l'utilisation du B.C.G. pour maintenir des rémissions complètes et renforcées de leucémies aiguës lymphoblastiques, comme le préconisent Mathé et coll. (492). Le deuxième est l'utilisation de produits chimiques pour traiter des tumeurs cutanées : mycosis fongoïdes par application de DNCB (Ratner et coll., 1968) (633) et épithéliomas ou lésions précancéreuses pour lesquels une cicatrisation a été obtenue dans 95 % des cas, avec un recul de trois ans, par application de DNCB ou de T.E.I.B. (Helm F. et Klein E., 1965 [338, 339], Williams A.C. et Klein E., 1970 [782]). Ces résultats doivent être accueillis avec réserve car certains auteurs hésitent à utiliser des produits cancérigènes tels que le D.N.C.B.

S'il n'est pas toujours facile d'utiliser les adjuvants de l'immunité chez l'homme (phénomène de choc signalé par Laval P. et coll. [427] au cours d'injection intraveineuse de *Mycobacterium Phlei*), il semble que ce type de thérapeutique soit un premier progrès utilisable en clinique humaine, soit seul, soit associé à l'immunothérapie active spécifique. Il faut néanmoins savoir qu'il existe parfois des phénomènes de facilitation inattendus (504) même lorsqu'on utilise les adjuvants de l'immunité seuls (664).

b) **Immunothérapie active spécifique :**

C'est la sollicitation des réactions immunitaires contre le T.A.T.A. correspondant à la tumeur portée par l'hôte. De nombreux essais, tant expérimentaux que cliniques, ont été entrepris surtout par injections de cellules tumorales rendues non prolifératives (13, 496, 639, 788). Les recherches actuelles essaient d'augmenter l'efficacité de ce type d'immunothérapie.

Dans un premier temps, il a d'abord fallu en démontrer l'éventuel effet. Cette démonstration a été faite par KRONMAN B.S. et coll. (414, 772) dans un système expérimental en fait très particulier. Les auteurs utilisent des cobayes syngéniques (« strain 2 ») qui reçoivent une injection intramusculaire d'une tumeur ascitique dérivant d'un hépatome primaire induit dans cette lignée d'animaux. Cette injection entraîne l'apparition d'une tumeur solide en 16 à 23 jours selon la dose (de 3×10^4 à 3×10^6 cellules). 5, 12 et 19 jours après la charge tumorale, les animaux reçoivent une injection des mêmes cellules, mais par voie sous-cutanée dans un but immunothérapique (ce type d'injection n'entraîne pas l'apparition de tumeur).

Lorsque la charge tumorale a été de 3×10^6 cellules, il n'y a pas d'effet thérapeutique ; à 3×10^5 cellules, on retrouve une petite action qui devient significative pour 3×10^4 cellules (augmentation du temps d'apparition des tumeurs, augmentation du temps de survie avec deux animaux survivant au bout d'un an).

Cette action est spécifique de la tumeur car en utilisant d'autres souches tumorales comme agents immunisants, on n'observe aucune action.

Il faut remarquer que ce type d'observation est assez privilégié car habituellement les résultats enregistrés sont très significatifs dans des expériences de protection, c'est-à-dire quand l'injection immunisante a lieu avant la charge tumorale. Ce type d'expérience avait d'ailleurs été très positif avec ce modèle expérimental pour une charge tumorale élevée de 4×10^6 cellules. Là encore, d'ailleurs, l'effet immunothérapique s'est manifesté pour une quantité de cellules avoisinant 10^5 cellules (quoi qu'on ne connaisse pas la vitesse de multiplication des cellules tumorales injectées !).

Très récemment, ELBER F.R., HOLMES E.C. et MORTON D.C. (196) ont obtenu des résultats similaires avec un liposarcome induit par le méthylcholanthrène chez le cobaye (lignée syngénique). L'immunisation intradermique a un effet antitumoral contre la tumeur intramusculaire si elle est pratiquée en même temps ou au plus tard 10 jours après la charge tumorale. L'immunisation la plus efficace était obtenue avec des cellules vivantes venant de greffes de tumeurs transplantées, les résultats sont moindres, mais non négligeables, avec les cellules tumorales irradiées ou les cellules en culture. Ce type d'expérience montre que

l'immunothérapie est possible mais que les résultats obtenus sont moins intéressants qu'avec les expériences de protection. Néanmoins, ces dernières réalisent une première approche pour apprécier l'efficacité d'un éventuel agent immunogène. La différence des résultats entre expériences de protection et immunothérapie à proprement parler réside certainement dans la quantité de cellules à éradiquer. Lorsqu'on pratique une expérience d'immunothérapie, on ne connaît pas la quantité des cellules tumorales au moment de l'injection immunogène. Cette quantité dépend certes de la dose de charge tumorale, mais aussi des réactions de défenses naturelles de l'hôte, et de la vitesse de croissance de la tumeur (temps de doublement). Ces faits expliquent à la fois les différences des résultats entre expériences de protection et d'immunothérapie à proprement parler et les difficultés d'interprétation de ces dernières.

Ce type d'expérience reste néanmoins inapplicable puisqu'on utilise la même tumeur à la fois pour cancériser et traiter l'animal (sauf si on était capable d'empêcher la multiplication des cellules tumorales). Dans le système expérimental utilisant la leucémie L_{1210}, MATHÉ et coll. ont montré le rôle protecteur des cellules irradiées (15.000 r), en injection, 14 jours avant la charge tumorale. Mais cette protection entraînait un retard de la mortalité moins important que par le B.C.G. L'utilisation de cellules irradiées injectées après la charge leucémique montre un effet immunothérapique qui paraît plus important en une seule dose qu'avec des doses répétées (488).

Nous voyons donc que les résultats expérimentaux de l'immunothérapie active spécifique à proprement parler, sans être négligeables, n'apportent pas une révolution thérapeutique extraordinaire. Les résultats ne sont intéressants que pour des systèmes expérimentaux très particuliers ou pour des expériences de protection.

De nombreux auteurs se sont donc efforcés de trouver un moyen d'obtenir une immunothérapie active spécifique plus efficace.

Le phénomène de dérobade, décrit par EDDY et DEICHMAN, peut être rangé parmi les techniques d'immunothérapie active spécifique efficace. Nous avons déjà rapporté et discuté ce type d'expérience.

MORGAN J.F. (551) a obtenu des protections extraordinaires (presque 100 % de guérison !) en utilisant des cellules de tumeurs ascitiques de souris dont l'oncogénicité est atténuée par la culture et l'immunogénicité laissée intacte. En fait, ces expériences sont critiquables car tout d'abord l'auteur n'a pas pratiqué de véritable immunothérapie, comme nous l'avons déjà signalé ; ensuite, la culture, habituellement, augmente l'oncogénicité et le résultat obtenu par MORGAN est curieux ; enfin, la destruction mécanique des cellules affecte peu les résultats obtenus. Les excellentes protections pourraient n'être dues qu'à un virus parasite et les résultats obtenus seraient alors habituels. Il semble donc que le passage en culture soit une méthode pour l'instant à n'envisager qu'avec une extrême prudence et pour des cas bien particuliers.

Un autre procédé permettant de conserver l'antigénicité des cellules mais supprimant leur pouvoir prolifératour a été utilisé par JASMIN C. et coll. (373, 374). Ces auteurs ont utilisé l'iodo-acétamide et leurs premiers résultats ont été intéressants ; il semble que des recherches pour étendre cette méthode soient actuellement en cours.

De la même manière, COGGIN J.H. et coll. (133) avaient utilisé l'iododeoxyuridine qui est un corps ayant des effets similaires aux radiations X. Les résultats étaient identiques, mais non meilleurs, que ceux obtenus avec l'irradiation. Dans cette publication, l'auteur faisait remarquer que la destruction des cellules entraînait la perte de leur pouvoir protecteur. Ce résultat est intéressant, car il semble logique d'essayer d'isoler le T.A.T.A. et de l'utiliser comme agent immunogène. Ce premier résultat peut indiquer que la place du T.A.T.A. sur la cellule a un rôle important dans l'efficacité immunologique.

Néanmoins, appliquant les techniques d'obtention des antigènes de transplantation (système H_2) (143, 253, 298, 299, 318, 378, 462, 563, 567, 786), MARTYRE M.C., et HALLE-PANNENKO O. ont extrait et purifié des néo-antigènes tumoraux à partir de cellules spléniques et du sérum de souris porteuses de la leucémie de Charlotte FRIEND (300, 301, 303, 468). Ces extraits protègent les souris contre une injection de virus leucémique de Ch. FRIEND, mais là encore les auteurs ne sont pas certains de ne pas véhiculer un virus dans leurs extraits. Il faut signaler le danger de l'utilisation de ces extraits en carcinologie, danger souligné dans une publication plus récente par ces mêmes auteurs (302). La fraction hydrosoluble des antigènes de greffes de cellules murines tumorales BP8 entraîne une prolongation de survie ou un rejet accéléré de la greffe de peau allogénique selon la dose d'extraits injectés. L'image de la balance immunitaire de HELLSTRÖM K.E. permet de comprendre la facilité qu'il y a de passer du rejet à la facilitation (d'autres facteurs que la dose permettent d'ailleurs de passer d'un effet à l'autre) (210, 304).

Il faut remarquer que dans un autre système expérimental, OETTGEN H.F., OLD L.G. et coll. (579) ont obtenu des résultats plus encourageants. Utilisant une tumeur chimioinduite de cobaye syngénique, ils ont réussi à immuniser les animaux avec des extraits acellulaires solubles. De même, PILCH Y.H. (611) a obtenu des résultats comparables avec des extraits acellulaires d'un sarcome murin induit par le méthylcholanthrène. L'utilisation d'extraits embryonnaires n'a pas amélioré les résultats expérimentaux de l'immunothérapie active (666). Ces injections étaient pratiquées à cause de la parenté que certains auteurs ont souligné entre les néo-antigènes tumoraux et les antigènes embryonnaires (antigène carcino-embryonnaire, C.E.A.). Mais nous avons déjà signalé la tolérance probable de l'hôte envers ces antigènes présents lors de la vie embryonnaire.

Avant de terminer ce tour d'horizon de l'utilisation expérimentale d'extraits tumoraux acellulaires dans un but d'immunothérapie active spécifique, il faut citer la facilitation obtenue par GOLNER H. et coll.

(243). Ces auteurs essaient de protéger des hamsters ayant reçu des injections de virus SV_{40} à la naissance. 14 jours après cette charge néonatale, un groupe reçoit les extraits tumoraux (selon la méthode de BJORKLUND [77] et l'adjuvant de Freund ; un deuxième groupe reçoit sous un même volume du milieu de Hank's BSS et l'adjuvant de Freund ; le troisième groupe est un groupe témoin. Il y a une facilitation dans les deux groupes d'essais. Ce résultat curieux souligne l'importance du véhicule des agents immunogènes et des thérapeutiques associées. Dans ce cas, la facilitation n'est pas due aux extraits tumoraux, mais à l'excipient de l'injection, comme le montre le groupe 2.

L'association de l'immunothérapie active spécifique et non spécifique peut être un moyen d'augmenter l'efficacité antitumorale. MATHÉ G. et coll. signalent des cas de guérisons de leucémie L_{1210} en associant des injections de B.C.G. à des cellules leucémiques L_{1210} irradiées.

Pour notre part, nous pensons que des recherches sur un modèle expérimental où entre un élément xénogénique pourraient apporter une augmentation de l'action antitumorale de l'immunothérapie active spécifique (204). En 1967, OTH D. et BURG C. signalaient l'augmentation de l'immunité entraînée par des tumeurs chez des animaux hybrides par rapport à la lignée d'origine (effet hybride) (596).

Auparavant, GIRARDI A.J. (236) montrait le rôle protecteur de cellules humaines transformées par le SV_{40} chez des hamsters ayant reçu à la naissance une injection virale. Ce fait souligne bien que le T.A.T.A est spécifique du virus ; quelle que soit la cellule, le T.A.T.A. est le même pour un virus donné.

De plus, récemment, COX H.R. et coll. (144) ont montré que l'adjonction de cellules xénogéniques aux cellules irradiées immunisantes augmente l'effet antitumoral. Les auteurs rajoutent des cellules tumorales de souris aux injections de cellules tumorales irradiées de hamster (dans un système hamster-tumeur du hamster).

HARRIS a montré récemment que le pouvoir protecteur de cellules portant le T.A.T.A. était considérablement augmenté par hybridation cellulaire. Comme dans l'expérience de COX H.R. et coll., cette augmentation est due à l'apport du matériel antigénique étranger à l'hôte, mais ce matériel est en continuité avec les cellules tumorales (170, 317). De plus, chez l'animal, il est inutile d'irradier les hybrides entre cellules non syngéniques puisqu'ils sont rejetés par l'hôte (si la cellule hybride obtenue reste immunogène et si les antigènes de transplantation sont maintenus, ce qui, en fait, n'est pas toujours le cas).

Nous pensons que l'utilisation de cellules xénogéniques portant le même T.A.T.A. que la tumeur que l'on désire traiter pourrait apporter, comme les hybrides, une augmentation de l'effet immunothérapique. Ce point de vue est l'un des buts de notre travail actuel.

Avant de terminer cette revue des travaux expérimentaux sur l'immunothérapie active spécifique expérimentale, il faut signaler la possibilité d'immunorésistance. KLEIN G. et coll. (209) ont montré que l'immunothérapie active spécifique pourrait toujours laisser des cellules immunorésistantes. Ce point, qui n'est pas absolument prouvé, ne doit pas être perdu de vue lorsqu'on pratique une immunothérapie.

Les applications à l'homme de l'immunothérapie active spécifique sont nombreuses aussi bien pour les leucémies et les hématosarcomes (11, 60, 129, 494, 688) que pour les tumeurs solides (183, 278, 280, 282, 295, 370). De tous ces essais, il ressort que la quantité de cellules où l'immunothérapie semble agir doit se situer aux environs de 10^5 cellules (506, 556). Ce fait montre que les cancers avancés ne sont pas une bonne indication de l'immunothérapie et que les thérapeutiques immunitaires doivent suivre un traitement réductionnel efficace (chirurgie, radiothérapie ou chimiothérapie) (518). L'association immunothérapie active spécifique et non spécifique chez l'homme semble à préconiser.

Le plus souvent, les auteurs ont utilisé des systèmes autologues (228, 249), le malade recevant des préparations issues de sa propre tumeur préalablement extirpée et rendue inactive par divers traitements. Dans d'autres cas, des broyats tumoraux sont mélangés à l'adjuvant de Freund (FINNEY et coll. [213], GRAHAM [256]) ou à des gammaglobulines de lapin (CZAJOWSKI et coll. [150], CUNNINGHAM et coll. [147]).

Se basant sur l'hypothèse de l'origine virale des leucémies aiguës lymphoblastiques et connaissant l'antigénicité croisée existant pour les tumeurs virales chez l'animal (et vérifiées par DORE J.F. [185, 186] pour la L.A.L.), MATHÉ et coll. (493, 497) ont constitué, à partir de plusieurs malades, des pools de lymphoblastes tumoraux qui sont irradiés et formolés. Les résultats obtenus sont irréguliers mais parfois très encourageants (465, 500, 501, 503). Il n'est pas impossible que certains types cellulaires soient plus propices à une bonne efficacité d'une immunothérapie (502).

Dans tous les cas, les auteurs cherchent, en se basant sur les essais expérimentaux, à réaliser une préparation non proliférative ayant conservé une antigénicité tumorale spécifique aussi réactive que possible. C'est indiscutablement l'immunothérapie active (spécifique et non spécifique) qui a, jusqu'à présent, apporté les résultats les plus nets dans le traitement des cancers humains.

DEUXIÈME PARTIE

I - Le Matériel utilisé

II - Les Expériences réalisées

I - LE MATERIEL UTILISE

A - Les animaux :

a) Hamster.

b) Souris AKR.

B - Le virus polyme :

C - Les cellules tumorales :

a) cellules tumorales S 724 :

— obtention de la tumeur

— transplantabilité

— histologie :

- tumeur primaire S 724
- tumeurs transplantables

— étude cytologique

— étude ultrastructurale

— étude cytogénétique

— caractères immunologiques

— calcul de la dose tumorale 50 %

b) cellules tumorales CT_{54}

c) cellules tumorales ST_{py}

A - Les animaux :

a) Hamster : nous avons employé des hamsters dorés syriens, non homozygotes, de notre élevage (*Cricetucus Auratus*). Nous avons vérifié l'hétérozygotie des hamsters par greffe de peau. Pour cela, nous avons mis au point une technique de greffe de peau en appliquant le principe de greffe de peau de queue dans la région interscapulaire utilisé pour la souris (472, 667).

b) Souris : nous utilisons des souris syngéniques AKR de notre élevage.

La syngénicité de nos animaux est vérifiée par greffe de peau (greffe de peau de queue dans la région interscapulaire) (cf. figure n° 6).

Les animaux sont anesthésiés par une injection intra-péritonéale de 1 mg environ de Pentobarbital sodique (Nimbutal) sous un volume de 0,10 à 0,15 ml. On prélève la peau de la queue avec des précautions d'aseptie et d'antiseptie chirurgicale en la retroussant comme un doigt de gant. On découpe le greffon et on le dépose dans un verre de montre contenant de l'eau salée à 9 p. 1.000. Nous pratiquons les greffes de façon croisée et nous disposons donc de deux greffons et de deux souris à greffer. On désinfecte la région interscapulaire des animaux endormis, puis on découpe un disque de peau d'un demi-centimètre de diamètre environ. On enlève le disque cutané et on prend soin d'un peu décoller la peau autour de la zone à greffer.

Ensuite, on pose délicatement le greffon sur la zone interscapulaire. On a pris soin de tailler le greffon plus grand que la zone à greffer. On enfouit les bords du greffon sous la peau décollée. La contention s'effectue ainsi sans points de suture.

On surveille ensuite les animaux. Les greffes croisées entre souris AKR n'ont jamais été rejetées, prouvant ainsi la syngénicité de notre lignée murine. Nous comparons l'aspect de nos prises de greffe à des rejets obtenus par greffe de peau de souris allogéniques.

B - **Le virus polyme :**

Nous avons utilisé un mutant « small plaque » de la souche Toronto isolé par STOCKER. Ce virus est entretenu sur primo-culture d'embryon de souris (180, 192, 194, 411, 449, 545, 646, 648, 652).

Le titrage du virus polyome s'effectue par la méthode d'inhibition d'hémagglutination ou par la méthode des plages comme cela a déjà été décrit antérieurement (441). On peut convertir les résultats de la première technique en unités de plages avec une précision relativement faible, mais suffisante pour nos expériences.

C - **Les cellules tumorales :**

a) cellules tumorales S 724

A notre arrivée dans le Laboratoire de Recherche du C.R.A.C.M., nos Maîtres, le Professeur BONNEAU H. et le Docteur MEYER G. nous ont confié notre premier travail : l'isolement d'une tumeur transplantable de la souris AKR, induite par le virus polyome.

1° OBTENTION DE LA TUMEUR :

Le virus polyome, injecté à des souriceaux AKR nouveau-nés provoque la formation de tumeurs primaires dont le siège au niveau des glandes salivaires est un des plus fréquents (158, 159, 190, 191, 220, 294, 413, 428, 451, 632, 659, 678, 679, 708, 710, 711).

95 souriceaux nouveau-nés, âgés de moins de 12 heures, ont reçu par voie sous-cutanée dorsale des doses de virus variables selon les lots d'animaux. Nous avons essayé une multiplicité d'infections pour trouver une dose oncogène efficace, non léthale. En effet, lors de l'injection virale, les animaux font une infection généralisée à prédominance rénale (cycle infectieux ou lytique du virus polyome *in vivo*).

Si la dose n'a pas été trop élevée, les animaux guérissent de l'infection virale aiguë (52) ; ensuite, les tumeurs primaires apparaissent, réalisant un cycle transformant *in vivo* (193, 293, 630, 720, 721). BONNEAU H. a étudié la cinétique de l'infection virale au niveau du rein de hamster et a constaté l'évolution des lésions jusqu'à la restitution *ad integrum* vers le 15^{e} jour (89).

Si la dose est trop élevée, les souriceaux meurent d'infection virale banale. Nous pensons, par analogie aux travaux antérieurs, que nos animaux meurent d'infection virale. Ceci n'est en fait que l'hypothèse la plus probable, mais nous n'avons réalisé aucune expérience permettant de l'affirmer.

FIGURE N° 6

Aspect d'une prise de greffe.

Comme le montre le tableau n° 7, nous avons inoculé 5 groupes de souriceaux.

— 5 portées représentant 29 nouveau-nés ont reçu 10^7 U.F.P. de virus polyome sous un volume de 0,1 ml par voie sous-cutanée dorsale.

— 21 souris sont mortes d'infection virale (72,4 %).

— 5 animaux ont été sacrifiés au cours du 7e mois sans présenter de lésion (17,2 %).

— 3 souris ont présenté des lésions de leucosarcomatose entre le 4e et le 5e mois (10,35 %).

Les souris AKR, tolérantes au virus de Gross, présentent dans 80 à 90 % des cas des leucémies spontanées qui apparaissent au plus tôt le 190e jour et qui ont une latence moyenne de 260 jours, soit entre le 8e et le 9e mois (424).

Dans ce premier groupe, le processus leucosarcomateux est donc apparu beaucoup plus tôt que prévu.

— Ensuite, une portée de 7 souriceaux a été inoculée avec 5×10^6 U.F.P. de virus polyome par animal. 6 animaux sont morts d'infection virale (85,7 %); le dernier a présenté une tumeur des glandes salivaires induite par le virus polyome (14,3 %).

On n'a pas noté de processus leucosarcomateux.

— Une portée de 5 souris a reçu 10^6 U.F.P. de virus. Deux souris sont mortes d'infection virale (40 %). Trois ont présenté des tumeurs primaires induites par le virus polyome (60 %) : deux tumeurs des glandes salivaires et une tumeur rénale. Mais un animal était porteur à la fois d'une tumeur salivaire épithéliale et d'un lymphosarcome (sur le tableau, nous avons fait figurer ce résultat entre parenthèses : 20 %) entre le 4e et le 5e mois.

— Une portée de 9 souriceaux reçoit 5×10^4 U.F.P. de virus polyome par animal. 4 animaux meurent d'infection virale (44,4 %). Deux (22,3 %) présentent un processus leucosarcomateux, un à 5 mois, l'autre à 7 mois (ce qui est plus classique, bien que plus précoce que la moyenne de 260 jours).

Trois souris sont porteuses de tumeurs salivaires induites par le virus polyome.

— Enfin, six portées, représentant 45 souriceaux, sont inoculées avec $1{,}5 \times 10^3$ U.F.P. de virus polyome par animal.

Deux animaux sont indemnes de toute lésion (4,4 %). 20 souris sont mortes d'infection virale (44,4 %), 15 sont porteuses de lésions leucosarcomateuses (33,3 %), dont 11 avant le 6e mois, et 8 de lésions tumorales induites par le virus polyome (17,7 %) : 6 tumeurs salivaires, une tumeur rénale et un fibrosarcome sous-cutané ventral.

De nombreuses remarques s'imposent après ces résultats, parfois inattendus.

Tout d'abord, la résistance des animaux aux injections de virus polyome semble difficilement interprétable. Il n'y a qu'à dose forte (10^7 U.F.P.) et à dose faible ($1{,}5 \times 10^3$ U.F.P.) que quelques animaux ne présentent aucune lésion pathologique. Pour la dose faible, l'explication paraît évidente. Mais pour la forte dose, on comprend mal que les animaux aient pu résister. Les défenses immunitaires de souris AKR sont spontanément très déprimées. On peut concevoir que, pour une raison inconnue, ces animaux ont un tonus immunitaire correct qui leur permet de lutter contre la présence du virus polyome et ses conséquences, rapidement après la naissance.

On remarque ensuite que la mortalité due aux infections virales est très importante aux doses élevées, avoisinant 80 %. Aux doses plus faibles, elle diminue, mais se maintient toujours aux alentours de 40 %. Cette diminution de moitié est brutale à partir de 10^6 U.F.P. de virus polyome. Ce pourcentage fixe d'animaux ne résistant pas à l'infection virale pour des doses allant de 10^6 U.F.P. à 5×10^3 U.F.P. de virus montre que la sensibilité à l'infection virale dépend de l'hôte et peu de la dose de virus injecté.

Le pourcentage de tumeurs induites par le virus polyome dépend, par contre, nettement de la dose de virus injectée. Aux fortes doses, il n'y a pas ou peu de tumeurs, elles n'ont pas le temps d'apparaître, les animaux meurent d'infection virale. Aux faibles doses, il y a peu de tumeurs, les animaux résistent à l'atteinte virale, mais surtout on voit apparaître, comme nous allons y revenir, des processus leucosarcomateux précoces.

On peut donc dire que la dose optimale d'oncogénèse du virus polyome pour la souris AKR se situe aux alentours de 10^6 U.F.P. (le nombre d'animaux du groupe est certes peu important, 5, mais le comportement des autres groupes permet d'accorder un certain crédit à ce résultat).

Enfin, pour terminer, il faut discuter l'apparition précoce d'une certaine « leucémogénèse » due au virus de Gross (ce type de lésion ne peut pas être dû au virus polyome).

Comme le montre le tableau n° 8, 21 animaux ont présenté des processus leucosarcomateux à l'examen histologique pratiqué à l'autopsie des souris. Sur ces 21 souris AKR, 5 seulement présentaient ces aspects à un âge habituel(après le 7e mois), 16 montraient un cycle leucémogène très précoce (avant et bien avant le 6e mois).

Ce résultat, qui n'a pas été signalé auparavant (275), peut être expliqué de diverses façons.

Doses de virus polyome U.F.P.	Nombre de souriceaux inoculés	Animaux indemnes		Leucosarcomatose		Animaux morts d'infection virale		Tumeurs induites par le virus polyome	
		Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
10^7	29	5	17,2%	3	10,35%	21	72,4%	0	0%
$5x10^6$	7	0	0%	0	0%	6	85,7%	1	14,3%
10^6	5	0	0%	1	20%	2	40%	3[x]	60%
$5x10^4$	9	0	0%	2	22,3% (11,2%)	4	44,4%	3	33,3%
$1,5x10^3$	45	2	4,4%	15	33,3% (24,4%)	20	44,4%	8	17,7%

TABLEAU N° 7 - ( ) : Pourcentage obtenu en enlevant les animaux de plus de 7 mois.
x : Animal porteur d'une tumeur épithéliale salivaire et d'un lymphosarcome.

Doses de virus polyome U.F.P.	3 au 4ème mois	4 au 5ème mois	5 au 6ème mois	6 au 7ème mois	7 au 8ème mois	8 au 9ème mois
10^7	2	1				
10^6		1[x]				
$5x10^4$			1		1	
$1,5x10^3$	3	4	4			4

TABLEAU N° 8 : Temps d'apparition des processus leucosarcomateux.

x : souris porteuse à la fois de leucosarcomatose et de tumeur salivaire.

Tout d'abord les aspects rencontrés sont des aspects histologiques et non hématologiques (cytologie sanguine). La première hypothèse qui peut être sculevée est qu'un processus leucosarcomateux localisé à différents organes précède la diffusion hématogène. Dans un aussi grand nombre de cas (16) et aussi précocément, nous ne pensons pas que de tels aspects aient déjà été rapportés. L'aspect leucémique des lésions rencontrées est en fait très tardif et inconstant pour les souris AKR. La deuxième hypothèse est que les suspensions virales contiennent des virus de Gross. Le virus polyome est d'ailleurs un contaminant des suspensions virales de Gross. Le Docteur CESARINI J.-P. a montré en fait que le virus polyome utilisé était pur par un examen des suspensions au microscope électronique. La troisième hypothèse est que le virus polyome, surtout à des doses relativement faibles, facilite l'apparition, l'éclosion du processus leucémique dû au virus de Gross, ce processus étant soit localisé à différents organes, soit généralisé (on a déjà montré que l'adjonction d'un second carcinogène facilite l'action du premier) (206).

Nous assistons donc à une sorte de facilitation de l'action leucémique du virus de Gross par le virus polyome. Cette facilitation réside peut-être dans une baisse du tonus immunitaire chez des animaux aux défenses immunologiques déjà altérées.

En résumé, aux fortes doses de 5×10^6 à 10^7 U.F.P., les animaux meurent d'infection virale (cycle lytique du virus polyome) ; aux doses moyennes, de 5×10^4 à 10^6 U.F.P., les animaux présentent des tumeurs induites par le virus polyome ; et aux doses faibles de $1{,}5 \times 10^3$ U.F.P. à 5×10^4 U.F.P., les réactions des souris AKR se caractérisent surtout par l'action facilitante du virus polyome vis-à-vis de la leucémogénèse due au virus de Gross.

Nous pensons que cette expérience représente un excellent exemple des interactions complexes qu'il peut y avoir entre un hôte récepteur et un agent carcinogène.

Parmi ces nombreuses tumeurs primaires, après quelques essais de transplantabilité, nous avons choisi une tumeur des glandes salivaires portée par la souris 724 (90). Cet animal avait reçu à la naissance une injection sous-cutanée dorsale de $1{,}5 \times 10^3$ U.F.P. de virus polyome. 153 jours après, la souris adulte présentait une tumeur de la base du cou, un peu en collier, de la taille d'une noisette. La tumeur a été prélevée ; sa couleur était blanche, sa consistance à peine ferme ; elle était peu hémorragique. Une autopsie complète n'a pas montré d'autres lésions. Un prélèvement tumoral a été examiné histologiquement et au microscope électronique. Une mise en culture a été entreprise : nous avons ensemencé 5 tubes de Leighton, 2 boîtes de 200 ml et une boîte de 90 ml. Cette primo-culture a permis un examen caryotypique. Le passage a été assuré par l'inoculation de 2×10^6 cellules tumorales trypsinées à deux animaux adultes par voie sous-cutanée dorsale. Nous appelons cette souche tumorale S 724.

2° Transplantabilité :

Cette tumeur s'est avérée transplantable selon une technique classique (379). Lorsque les tumeurs atteignent la taille d'un gros pois, elles sont prélevées par une méthode chirurgicale. Si l'on désire conserver l'animal, on pratique une anesthésie (sinon il est sacrifié). L'animal est endormi grâce à une injection intrapéritonéale de 1 mg environ de Pentobarbital sodique (Nimbutal) sous un volume de 0,10 à 0,15 ml.

Lorsque l'animal est endormi, on le fixe, avec quatre épingles, sur une plaque de liège recouverte de papier d'aluminium. L'animal est fixé sur le ventre.

Arrivé à ce stade, les différentes manipulations se font aseptiquement en chambre stérile. La région tumorale (dorsale) est abondamment aspergée d'alcool iodé. Les instruments utilisés sont stériles et protégés avant l'emploi par du papier d'aluminium.

A l'aide d'une pince et d'un ciseau à dissection, on incise la peau du dos et on prélève le moins hémorragiquement possible la tumeur. On la dépose ensuite dans une boîte de Pétri stérile. En s'aidant des ciseaux et de la pince, on débarrasse la tumeur des débris nécrotico-hémorragiques éventuels.

De petits fragments des tumeurs sont recueillis pour les études histologiques et ultrastructurales et éventuellement caryotypiques et immunologiques (si l'animal est sacrifié on effectue une autopsie complète).

La plaie dorsale est ensuite suturée selon une technique chirurgicale courante (fil de diamètre 0 ou 00).

La tumeur, débarrassée des différents débris, est d'abord nettoyée dans la boîte de Pétri avec du milieu usuel (Eagle). Ensuite, on la découpe en tout petits fragments. Ces fragments sont introduits dans un tube à billes de verre stérile dans lequel on rajoute 5 ml de trypsine à 0,25 % (Trypsine Difco diluée dans du P.B.S.) (441).

L'ensemble de ces opérations s'effectue dans l'atmosphère avoisinant la flamme d'un bec bunsen.

On agite le tube pour dissocier le tissu tumoral, l'effet mécanique s'ajoutant à l'effet chimique.

Au bout de quelques minutes, on recueille à l'aide d'une pipette la suspension cellulaire que l'on dépose dans un tube à centrifuger. Une centrifugation de 3 à 5 minutes à 1.000 tr/mn est suffisante pour obtenir un culot cohérent. Pendant ce temps, une deuxième trypsination peut être commencée selon le même principe. On fera autant de trypsinations qu'il est nécessaire.

Lorsque la centrifugation est terminée, on jette délicatement le surnageant, puis on ajoute 2 ml de milieu de Eagle (ou tout autre liquide physiologique qui permet une bonne survie des cellules).

Avec une pipette, on pratique une homogénéisation de la suspension cellulaire.

On compte ensuite les cellules grâce à un hématimètre de Mallasez. Puis on ajuste la dilution cellulaire à la quantité désirée.

Pour notre part, nos différents passages ont été effectués par l'injection sous-cutanée dorsale de 2×10^6 cellules sous un volume de 0,5 ml. Les quelques injections intramusculaires que nous avons effectuées ont été faites sous un volume de 0,1 ml.

Pour certaines expériences plus précises, nous avons employé le test au bleu trypan lors du comptage des cellules. Le bleu trypan, qui colore en bleu les cellules mortes, permet de ne compter que les cellules capables de se développer chez l'animal. Ces cellules apparaissent réfringeantes lors de l'observation microscopique.

Les injections se font avec une seringue de volume moyen (5 ml à 10 ml) et une aiguille du type intradermique.

Après les injections, les animaux sont examinés de façon hebdomadaire ou bihebdomadaire. Dès que la taille d'une tumeur est suffisante, on effectue une nouvelle transplantation tumorale. Pour éviter de perdre la souche, à chaque transplantation on charge 5 animaux en moyenne.

Nous avons pratiqué un certain nombre de transplantations par injections intramusculaires dans la patte arrière. Ce type de passage a parfaitement réussi mais n'apportait pas d'amélioration à la technique habituelle.

Nous en sommes actuellement à la 24^e transplantation.

Nous avons aussi entretenu des lignées tumorales après injection à l'animal d'une primoculture de la tumeur S 274 et d'une deuxième subculture (la souris 829 appartient à cette deuxième lignée). Les transplantations ont été arrêtées au cinquième passage.

3° Histologie :

Les différents examens histologiques et cytologiques ont été réalisés par le Professeur Bonneau H. et le Docteur Robert-Vague D. Ce travail a d'ailleurs fait l'objet du mémoire du certificat d'Etudes spéciales d'Anatomie pathologique de Bonneau H.-P., dont nous reprenons ici les conclusions (90).

— Tumeur primaire S 724 (examen 42.126 C.R.A.C.M.) :

Il n'y a pas de capsule périphérique. La néoformation contient encore, par endroits, des éléments salivaires plus ou moins modifiés par le processus tumoral. La tumeur est caractérisée par un double contingent cellulaire à disposition plus ou moins lobulée et fasciculée. On trouve dans ces lobules, à la partie centrale, des formations épithéliales tubulaires, ou

des éléments acineux en métaplasie régressive, entourés d'un contingent de cellules fusiformes dans une substance fondamentale assez lâche et œdémateuse.

Les éléments épithéliaux se présentent sous forme de sections tubulaires transversales ou longitudinales. La membrane basale de ces éléments n'est pas apparente ; les assises cellulaires sont souvent polystratifiées. La lumière centrale est parfois obturée par les éléments cellulaires. L'activité sécrétrice est inexistante. Les noyaux sont irréguliers, souvent volumineux, avec des nucléoles bien visibles. La chromatine est irrégulièrement répartie. Les mitoses sont rares.

Sur l'une des coupes, nous avons pu suivre le passage progressif des éléments acineux avec leurs cellules « en panier de Boll » (cellules myoépithéliales) jusqu'au processus néoplasique en passant par tous les intermédiaires. On peut suivre la dédifférenciation progressive de l'acinus qui perd ses vacuoles et qui prend un aspect canalaire, alors que les cellules myo-épithéliales péri-acineuses prolifèrent de leur côté.

Ce contingent cellulaire péri-canalaire est nettement orienté ; ce sont des cellules fusiformes, à cytoplasme abondant, souvent éosinophile, le noyau est allongé, volumineux et irrégulier. Ces cellules prennent souvent des aspects « ondulés ». Par ailleurs, ces cellules sont disposées autour des éléments canalaires en formations concentriques, bulbiformes.

La revascularisation est abondante ; elle est faite de fentes vasculaires souvent bordées par le processus néoplasique.

Le stroma est lâche, œdémateux, myxoïde, sans aucune infiltration lymphocytaire. Il n'y a pratiquement pas de collagène ainsi que le montrent les colorations argentiques (réticuline).

En définitive, en présence de deux contingents cellulaires, l'un épithélial, l'autre d'aspect fusiforme indifférencié, nous avions porté le diagnostic de « tumeur mixte ». Par la suite, ce point de vue s'est un peu nuancé.

L'examen histologique des autres organes n'a montré aucune lésion (la souris a été sacrifiée assez tôt, avant l'apparition de métastases éventuelles).

— Tumeurs transplantables :

— *Premier passage* (souris 809, examen 50005 C.R.A.C.M.).

3 semaines après l'injection 2×10^6 cellules S 724 par voie sous-cutanée dorsale apparaît une tumeur dans la région de l'inoculation.

Histologiquement, la tumeur est constituée par une prolifération cellulaire monomorphe, souvent à disposition bulbiforme. Ces cellules sont contenues dans une substance fondamentale lâche. Les noyaux sont toujours irréguliers et volumineux ; on rencontre de nombreuses mitoses.

Cette prolifération tumorale est infiltrante et elle détruit les muscles de la région dorsale. La vascularisation est toujours de type lacunaire. On note l'absence de tout contingent épithélial.

En conclusion, seul le premier clone cellulaire de type fusiforme a persisté, les cellules épithéliales ayant disparu lors de la transplantation.

Dès ce premier passage, on a évoqué la possibilité de l'origine myoépithéliale de la tumeur, en raison de l'absence de collagène d'une part, de l'aspect fibrillaire et de la disposition péricanalaire des cellules fusiformes, d'autre part, dans la tumeur primaire. Ce type de tumeur est d'ailleurs fréquent au niveau des néoplasies des glandes salivaires (363).

— *Sixième passage* (souris 1019, examen 53025 C.R.A.C.M.).

La tumeur est apparue en 16 jours. Il s'agissait d'une tumeur polylobée, en « grains de raisin », blanchâtre.

Les coupes histologiques montrent toujours les mêmes aspects de cellules fusiformes, le contingent épithélial est toujours absent.

— *Quatorzième passage* (souris 1599. Examen 61.172 C.R.A.C.M.).

On retrouve les mêmes aspects histologiques que précédemment. On remarque de nombreux foyers de nécrose.

4° Etude cytologique des cultures de la souche S 724 :

1) *Primoculture âgée de 3 jours de la tumeur primaire* (examen 49213 C.R.A.C.M.).

Les lamelles présentent une culture confluente très riche en cellules fusiformes arrivant au contact les unes des autres. Les aspects de chevauchement sont relativement discrets. Dans l'ensemble, les noyaux sont peu monstrueux. Il n'y a pas de cellules géantes, ni de polycaryons.

La culture de la tumeur primaire S 724 a été perdue rapidement et son étude cytologique n'a pas pu être poursuivie.

2) *Primoculture de la tumeur portée par la souris 829* - 1er passage (Examen 49966 C.R.A.C.M.).

Cette culture est très riche en tapis continu avec des micro-colonies bien discernables.

Les éléments cellulaires sont tous de même type, mais avec une anisocytose et une anisonucléose très importantes. Certaines cellules ont 10 à 20 fois la taille des autres cellules. Elles sont toutes fusiformes, allongées, parfois triangulaires, avec de fins prolongements cytoplasmiques. Le cytoplasme est abondant, fortement basophile.

Les noyaux ovalaires ont une fine chromatine, avec des nucléoles bien visibles. L'activité mitotique est intense et les mitoses sont très atypiques.

L'aspect « dynamique » de la culture se traduit par :

— une poussée tri-dimensionnelle donnant les micro-colonies,

— un chevauchement de cellules,

— une perte de l'inhibition de contact, l'activité mitotique étant intense, alors que le tapis cellulaire est confluent (5, 722).

Nous avons donc obtenu une culture possédant des caractères de transformation maligne. On observe des cellules fusiformes dont les noyaux et l'abondant cytoplasme ne sont pas en faveur de cellules conjonctives mais rappellent l'aspect myo-épithélial observé en histologie.

3) *Primoculture de la tumeur portée par la souris 840 - 2*[e] passage (Examen 51572-73 C.R.A.C.M.).

L'aspect général de la culture est moins « dense » et plus jeune. Les cellules sont en tapis discontinu avec d'assez nombreuses micro-colonies.

Le contingent cellulaire est plus polymorphe ; on retrouve des cellules gigantesques ayant 30 à 40 fois la taille des autres cellules. La majorité des cellules est néanmoins de grande taille avec un cytoplasme très abondant et surtout une trame fibrillaire. Elles sont souvent « incurvées », allongées, les unes à côté des autres, rappelant les aspects histologiques. Certaines cellules ont un aspect « en panier ». Les prolongements cytoplasmiques sont très longs, confluents avec ceux des cellules avoisinantes.

Les noyaux sont ronds ou ovalaires, avec une fine chromatine et des nucléoles de taille modérée.

L'aspect tri-dimentionnel de la culture n'est pas encore très marqué, mais les chevauchements cellulaires sont déjà nets (« criss cross Pattern »).

A côté de ces éléments cellulaires bien différenciés, on trouve de petites cellules fusiformes triangulaires à noyaux réguliers, petits, ovalaires, sans anomalie chromatinienne.

Cette primoculture contient, semble-t-il, deux populations cellulaires, l'une peu différenciée, l'autre myoépithéliale.

4) *Culture 840 : 22*[e] *subculture* (Examen 51.732 C.R.A.C.M.).

Cette subculture est assez pauvre ; les cellules ne sont pas confluentes mais il existe cependant des îlots plus denses.

Les types cellulaires sont assez monomorphes : il existe, d'une part, des cellules à cytoplasme abondant, quadrangulaires ou fusiformes, à noyaux souvent hyperchromatiques et monstrueux, d'autre part, de petites cellules fusiformes indifférenciées.

Dans les zones les plus denses, on constate des chevauchements cellulaires, mais il n'y a pas de micro-colonies.

La culture est pauvre, sans activité mitotique nette, mais on retrouve néanmoins des cellules rappelant celles décrites dans les primocultures.

5) *Culture 840 : 81e subculture* (Examen 60.373 C.R.A.C.M.).

Les subcutures actuelles sont extrêmement riches ; les cellules semblent être bien adaptées au milieu utilisé.

Le tapis cellulaire s'effectue par confluence de micro-colonies à la pousse tri-dimentionnelle. L'enchevêtrement des cellules est très poussé (« criss cross Pattern »).

Les cellules sont monomorphes, fusiformes, avec des noyaux ovalaires et fortement nucléolés. On trouve quelques cellules volumineuses et quelques polycaryons. Les mitoses sont rares sur cette lamelle.

La subculture est très riche, très floride, avec des cellules peu atypiques indifférenciées, mais qui possèdent toujours les caractères « dynamiques » des cellules transformées.

En résumé, la culture du tissu tumoral a mis en exergue un contingent de cellules qui, au départ, présente les attributs des cellules myoépithéliales avec les caractères certains de malignité. Par la suite, ces cellules en lignée continue perdent progressivement leur différenciation.

Nous n'avons décrit en détails que quelques subcultures, mais l'étude de chaque lignée a été faite régulièrement.

5° Etude ultrastructurale :

Les différents examens au microscope électronique ont été réalisées par le Docteur Cesarini J.-P. et Mme de Micco C. pour la plupart de nos tumeurs expérimentales. L'évolution de la souche S 724 au cours des transplantations a pu ainsi être suivie.

1) *Tumeur primaire S 724*

L'étude ultrastructurale met en évidence plusieurs types cellulaires dont les degrés de différenciation sont variables. Le stroma est très peu développé, les fibres de collagène sont rares et se trouvent autour des cellules. Aucun aspect viral nucléaire ou cytoplasmique n'est visible dans la tumeur primaire.

• *Cellules très différenciées de type épithélial.*

Les cellules de ce type sont unies entre elles par des desmosomes bien visibles. La membrane cellulaire est régulière, mais il n'y a pas de membrane basale. Le noyau de ces cellules est régulièrement arrondi. La chromatine, fine, est régulièrement répartie. On ne note pas la présence de nucléole.

Le cytoplasme contient un ergastoplasme lamellé à contenu granuleux.

L'appareil de Golgi est souvent bien développé et l'on note la présence de quelques grains de sécrétion de type lysosome. Les mitochondries sont normales pour la plupart, quelques-unes seulement sont de grande taille et présentent quelques anomalies (gonflement et raréfaction des crêtes). Il y a quelques rares filaments dans les espaces laissés libres par l'ergastoplasme et les mitochondries.

• *Cellules différenciées de type myoépithélial.*

Les cellules de ce type sont nombreuses ; elles sont attachées aux cellules épithéliales ou glandulaires par des desmosomes. La membrane basale n'est pas visible. La cellule est allongée avec un noyau régulier, ovalaire, aplati selon le grand axe de la cellule. La chromatine est fine, le nucléole n'est pas visible. Le rapport nucléo-cytoplasmique est souvent élevé. Le cytoplasme est pauvre en lamelles ergastoplasmiques. Les mitochondries sont rares et on les rencontre aux deux pôles du noyau. Le reste du cytoplasme est occupé par de nombreux faisceaux de fibrilles allongées dans le sens de l'étirement de la cellule. Ces fibrilles sont parallèles les unes aux autres et parallèles à la membrane cytoplasmique. Les vésicules d'endocytose sont nombreuses au sein du cytoplasme, la membrane cytoplasmique est rectiligne sans prolongements, ni micro-villosités.

• *Cellules indifférenciées.*

Les cellules indifférenciées sont rares dans la tumeur primitive. Ces cellules sont caractérisées par la présence d'un fin liséré cytoplasmique englobant un noyau souvent volumineux. La membrane basale est toujours absente. Il existe des attaches de type desmosome avec les cellules voisines plus différenciées. Il n'y a aucun contact avec le collagène intercellulaire. Le cytoplasme contient quelques rares mitochondries, des ribosomes isolés ou en rosettes, un réticulum lisse, souvent bien développé, ainsi que quelques vésicules d'endocytose. Il existe un feutrage diffus de filaments grossièrement orientés dans le sens longitudinal de la cellule.

• *Cellules intermédiaires.*

Certaines cellules se présentent avec un pôle bien différencié, épithélial, et un pôle indifférencié, voire à contenu fibrillaire.

L'étude au microscope électronique de la tumeur primitive montre donc :

— qu'il existe quatre types cellulaires différents selon le degré de différenciation,

— que la présence de cellules myoépithéliales en grand nombre est indiscutable,

— que quel que soit le type cellulaire, il n'y a jamais de membrane basale et les cellules sont en contact étroit par des desmosomes,

— qu'il n'y a pas de fibroblastes et que le collagène est très peu abondant, ceci éliminant le diagnostic de fibrosarcome.

2) *Première transplantation* (souris 809)

On observe une disparition du contingent épithélial très différencié. La tumeur est constituée par deux types cellulaires différents au sein d'un stroma peu collagénique et œdémateux.

On note des cellules avec un ergastoplasme très dilaté contenant un matériel finement fibrillaire. Dans cette cellule, on voit naître directement le collagène au contact de la membrane cytoplasmique. Il semble donc s'agir d'une cellule à morphotype fibroblastique. On observe aussi les éléments allongés avec un noyau volumineux et une inversion du rapport nucléoplasmatique.

Le noyau de ces cellules est souvent irrégulier avec une chromatine en motte à disposition marginale. Il existe un nucléole volumineux. Le cytoplasme est peu abondant, il contient quelques ribosomes isolés, quelques lamelles ergastoplasmiques et quelques mitochondries le plus souvent altérées. Il n'y a pas de collagène au contact de ces cellules.

Devant la présence de tels éléments, on pourrait penser que la tumeur primitive, lors du premier passage, s'est transformée en fibrosarcome typique. En réalité, en examinant attentivement les contacts cellulaires, on remarque qu'il existe toujours entre les cellules des points d'attache. Ceux-ci sont souvent moins nombreux et moins visibles (condensation de la membrane cellulaire). On est donc toujours en présence d'une tumeur à cellules myoépithéliales.

On remarque la présence de particules virales de type C, extracellulaires. Ces particules sont constituées d'un nucléoïde central (40 ou 50 mμ) entouré d'une ou deux membranes plus ou moins denses aux électrons. La taille de ces particules est voisine de 90 à 100 mμ. La morphologie de ce virus permet de l'identifier au type C de Bernhardt W. (61, 62, 63). (Le virus de Gross est une particule de type C.)

L'examen n'a pas révélé de particules dites « D » (virus polyome) comme cela est habituel (55, 145, 181, 454, 455, 505, 677, 712, 717, 718, 719, 759, 781).

3) *Sixième transplantation* (souris 1019)

Ce type de tumeur est représenté uniquement par des cellules allongées avec un noyau volumineux, irrégulier, porteur d'un nucléole. Le cytoplasme est peu différencié et contient quelques mitochondries, quelques ribosomes en rosettes, quelques lamelles ergastoplasmiques. Les contacts cellulaires sont toujours présents. Ce sont surtout des condensations de la membrane cellulaire.

4) *Treizième transplantation* (souris 1416)

Cette tumeur est très nécrotique, ceci étant probablement dû à l'abondance en particules de type C. Les particules de type D sont toujours absentes. La morphologie cellulaire est cependant identique. On est en présence de cellules peu différenciées possédant des points d'attache. Il n'y a pas de membrane basale.

En conclusion, l'étude de nos différentes tumeurs montre :

— la disparition progressive des éléments épithéliaux différenciés au cours des transplantations,

— la persistance en grand nombre de cellules myo-épithéliales caractérisées par la présence de fibrilles intra-cytoplasmiques et de points d'attache inter-cellulaires,

— l'absence de membrane basale et de collagène naissant autour de ces éléments,

— la présence de particules virales de type C de Bernhardt W., mais aucune particule de type D (virus polyome).

Devant la présence de tels éléments (tant histologiques qu'ultrastructuraux), on peut conclure avec Bonneau H.P. qu'il s'agit de tumeurs à cellules myo-épithéliales par opposition au fibrosarcome que l'on peut rencontrer dans le système hamster-virus polyome.

6° Etude cytogénétique :

Nous avons étudié le caryotype de la tumeur S 724 à l'occasion de différentes transplantations.

La tumeur à étudier est mise en culture. Lorsque la culture est convenable, on bloque les mitoses par la colchicine. On établit ensuite les caryotypes selon les techniques précédemment décrites (320, 321).

Les différentes mitoses sont photographiées et comptées. Si cela est nécessaire, on agrandit les métaphases (21 cm × 27 cm) pour pouvoir découper et classer les différents chromosomes.

Pour la primoculture de la tumeur primaire S 724, nous avons ainsi analysé 82 mitoses. Le nombre modal se situe entre 39 et 41 pour 72 métaphases (environ 88 %). 51 mitoses présentent un nombre modal normal de 40 chromosomes (63 %). 6 mitoses possèdent un nombre modal élevé égal ou inférieur à la tétraploïdie (54, 55, 65, 67, 77, 80). 2 mitoses ont un nombre modal très élevé (104 et 107) (cf. figures n^{os} 9 et 10).

On rencontre quelques anomalies de structure : quelques rares cassures chromosomiques, mais surtout trois mitoses possèdent un chromosome biarmé que nous avons interprété comme étant un isochromosome (le nombre modal est de 40 pour deux mitoses et de 41 pour la troisième).

Les autres chromosomes sont normaux, c'est-à-dire tous de type acrocentrique, en épingle à cheveux, caractéristique des caryotypes murins (432). Nous avons très souvent retrouvé la paire chromosomique n° 15 en « rabbit ear » caractéristique (362).

Nous avons ensuite analysé la tumeur portée par la souris 1599 au cours du 13^{e} passage. Nous avons compté 59 mitoses révélant un nombre modal variant de 36 à 156 chromosomes (cf. figure n° 11).

Il existe deux populations cellulaires, l'une dont le nombre modal varie de 36 à 45, l'autre dont le nombre modal varie de 71 à 81. Il existe trois mitoses avec une ploïdie très élevée (137, 153, 157).

Les chromosomes biarmés (isochromosomes) sont retrouvés dans 32 métaphases, soit 57 %. 17 mitoses possèdent un seul isochromosome :

10 de nombre modal de 38 à 43

6 de nombre modal de 60 à 77

et 1 de nombre modal 137

Dix mitoses possèdent deux isochromosomes, leur nombre modal varie de 76 à 81.

Une mitose de 87 chromosomes contient 4 isochromosomes et 4 mitoses présentent 5 isochromosomes (nombres modaux : 69, 69, 72 et 153).

En dehors de l'augmentation nette de la fréquence des isochromosomes, on retrouve d'autres anomalies de structure. On rencontre de nombreuses cassures chromosomiques. Une mitose de nombre modal 40 présente un chromosome dicentrique. On observe dans 4 mitoses des figures d'endoreduplication sélective (nombres modaux : 40, 40, 77 et 153).

L'ensemble de ces anomalies paraît montrer une certaine évolution chromosomique de la tumeur S 724 au cours des transplantations. Il semble exister une augmentation du nombre modal avec acquisition d'isochromosomes.

Au cours du 15e passage, nous avons analysé la tumeur portée par l'animal 1815. L'examen a porté sur 51 mitoses (cf. figure n° 12). Nous retrouvons deux populations cellulaires :

— 28 mitoses dont le nombre modal varie de 29 à 46,

— et 11 mitoses dont le nombre varie de 70 à 94.

On retrouve deux mitoses avec une ploïdie très importante (163 et 172 chromosomes).

Les isochromosomes sont observés dans 22 mitoses, soit 54 %.

— 14 mitoses possèdent un seul isochromosome :

13 de nombre modal de 29 à 44

1 de nombre modal 79

— 6 mitoses possèdent deux isochromosomes :

2 de nombre modal, 37 et 43

4 de nombre modal de 70 à 94

— 2 mitoses possèdent trois isochromosomes de nombre modal 86 et 163.

Dans la population cellulaire à nombre modal bas on retrouve 15 mitoses sur 28 possédant des isochromosomes. Dans la population cellulaire à nombre modal haut on retrouve 7 mitoses sur 13 possédant des isochromosomes. Ces résultats sont tout à fait comparables à ceux obtenus au 13e passage.

Là encore, il existe d'autres anomalies de structure : de nombreuses cassures chromosomiques, trois endoréduplications sélectives et une endomitose. Nous discuterons un peu plus loin la signification possible de cette endomitose (cf. figure n° 13).

On peut donc penser en conclusion que le caryotype de la tumeur S 724 a évolué à partir de la tumeur primaire par une variation de la ploïdie et l'acquisition d'isochromosomes.

Pour apprécier le rôle éventuel de notre technique dans l'apparition d'anomalies chromosomiques, nous avons établi le caryotype de deux lignées murines normales sur primo-culture embryonnaire. Nous avons analysé 25 mitoses d'un embryon de souris tout venant de notre élevage. 8 % des mitoses avaient un nombre modal de 41 chromosomes, 76 % de 40 chromosomes, 12 % de 39 chromosomes et 4 % de 38 chromosomes. On observait quelques rares cassures chromatidiennes.

Sur les 25 mitoses d'un embryon de souris AKR, 91 % avaient un nombre modal normal de 40 chromosomes et 2 % un nombre modal anormal de 41 chromosomes. Là encore on observait quelques cassures chromatidiennes.

tumeur Primaire souris 724

40,XX

FIGURE N° 9

Caryotype de la tumeur primaire S 724 de formule chromosomique féminine normale 40 ,XX.

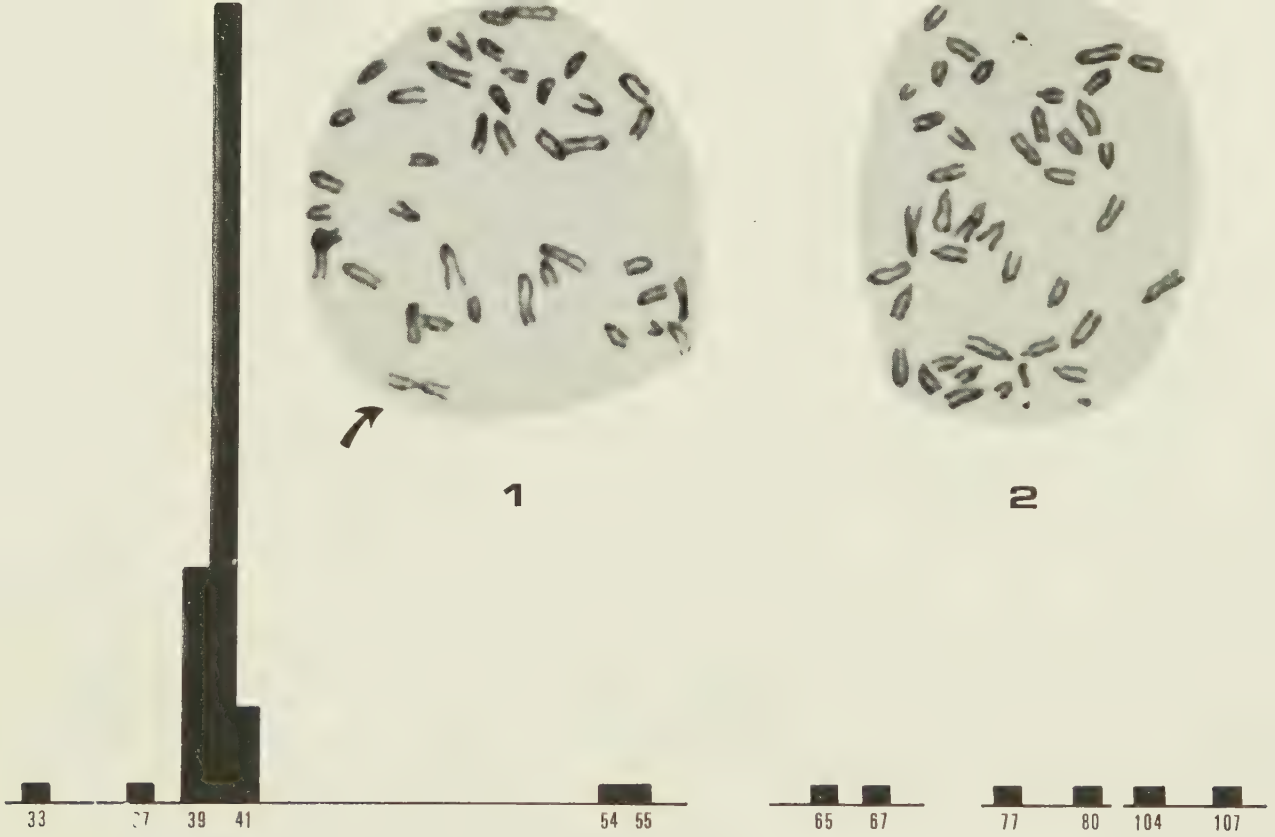

FIGURE N° 10

Histogramme de la répartition des nombres modaux de la tumeur primaire S 724 :

1) mitose à 41 chromosomes avec un chromosome biarmé.
2) mitose à 40 chromosomes.

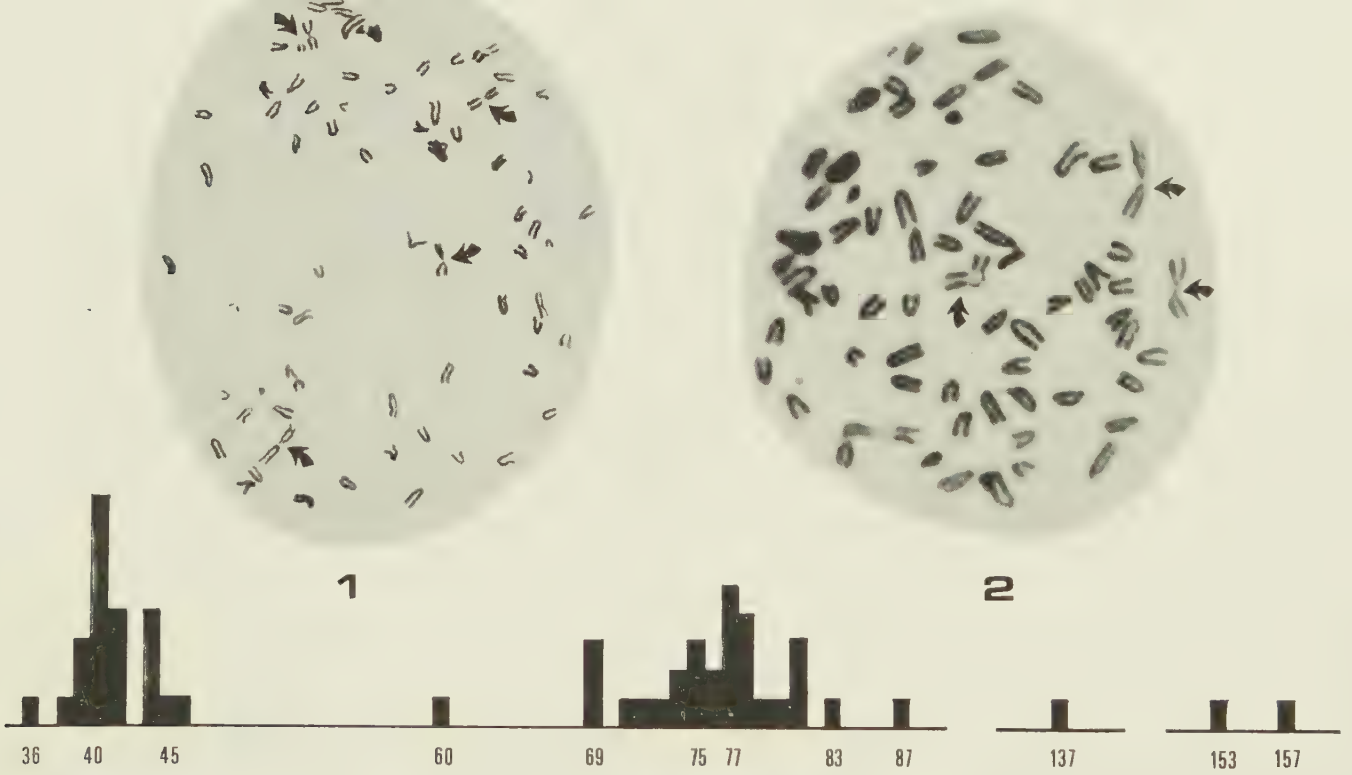

FIGURE N° 11

Histogramme de la répartition des nombres modaux
de la tumeur S 724 au 13e passage :

1) mitose à 72 chromosomes avec 4 isochromosomes.

2) mitose à 77 chromosomes avec 3 isochromosomes et un aspect d'endoreduplication sélective.

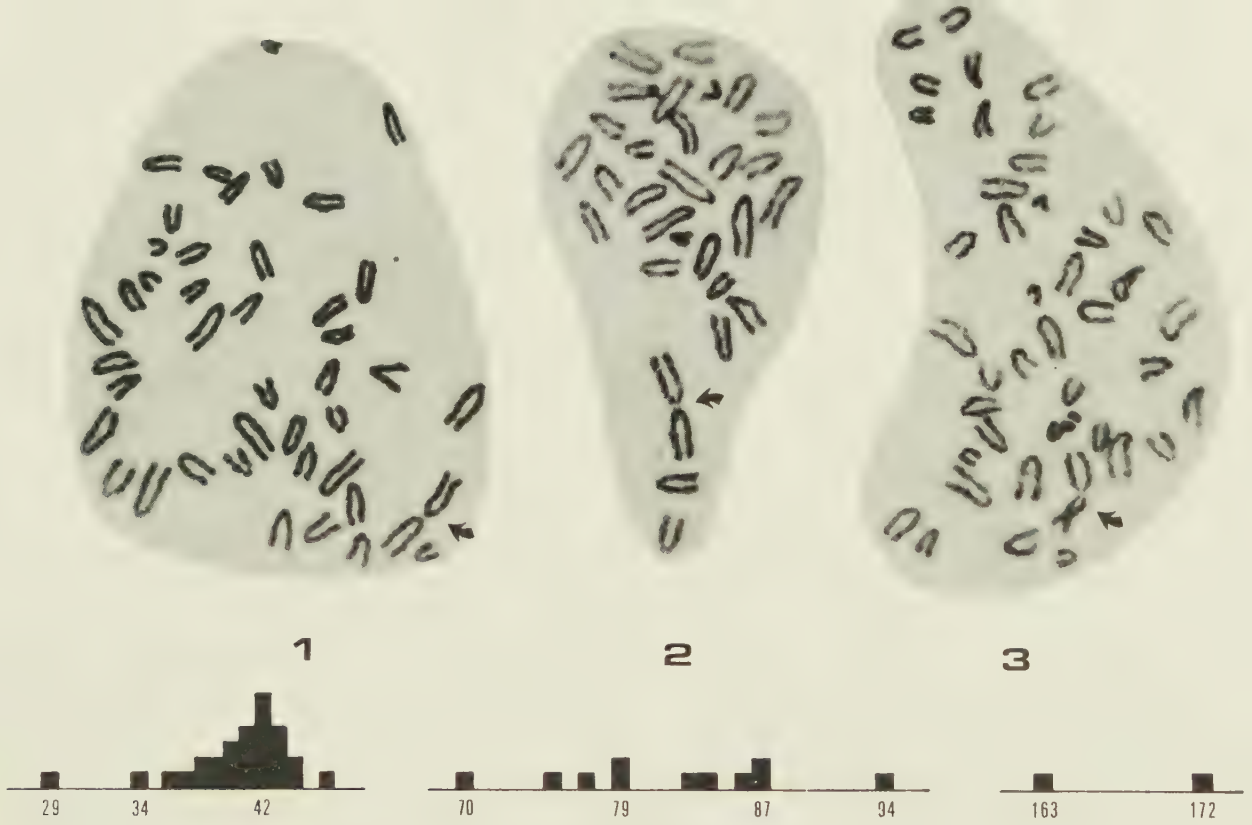

FIGURE N° 12

Histogramme de la répartition des nombres modaux
de la tumeur S 724 au 15e passage :

1) - 2) - 3) : mitoses à 29, 42 et 43 chromosomes possédant chacune un isochromosome.

On peut noter l'aspect du centromètre représenté par deux fins filaments.

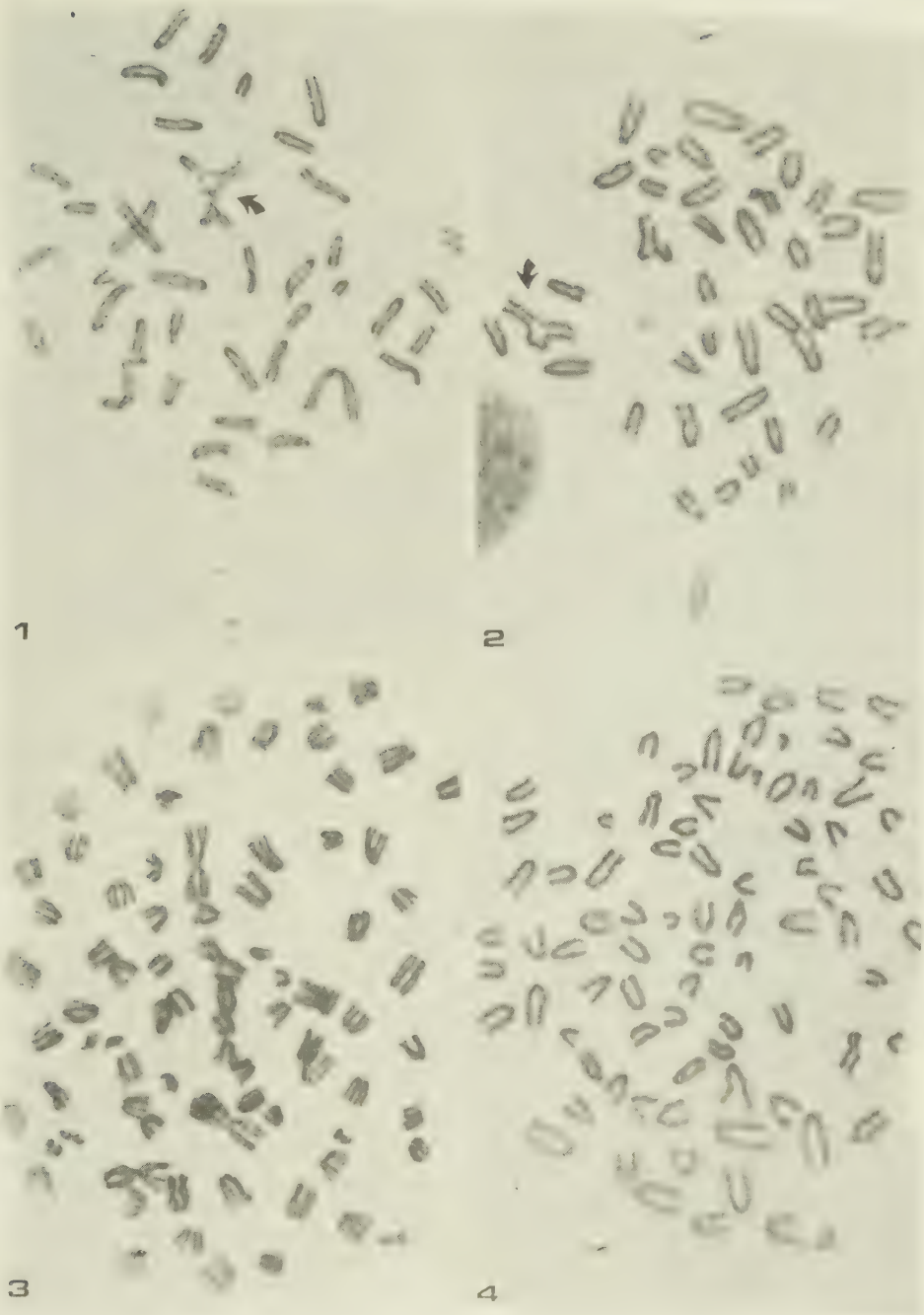

FIGURE N° 13

Tumeur S 724 au 15e passage:

1) - 2) : exemples d'endoréduplication sélective.

3) : endomitose.

4) : mitose pseudotétraploïde à 82 chromosomes.

Il semble donc qu'il ne faille pas tenir compte des cassures chromatidiennes lorsqu'elles sont en petit nombre. Un faible pourcentage de mitoses à 41 chromosomes ne doit pas être considéré comme significativement anormal puisqu'on retrouve ces mitoses dans les deux examens témoins. On peut remarquer qu'on s'explique mal ce phénomène ! Il est aussi évident qu'il est extrêmement délicat de tenir compte des mitoses de nombre modal inférieur au nombre modal normal car il existe toujours une certaine perte chromosomique lors du choc osmotique réalisant la dispersion chromosomique. Seul un pourcentage important peut être pris en considération.

Nous avons aussi réalisé l'analyse caryotypique des deux cultures de cellules tumorales S 724 que nous entretenons régulièrement (840 et 829) (cf. figure n° 14).

La tumeur de la souris 840 correspond à un deuxième passage de la souche S 724. La culture obtenue étant établie nous avons examiné le caryotype à la 2e, 6e, 58e, 71e, 102e et 113e subcultures.

Nous observons deux types de populations cellulaires jusqu'à la 71e subculture avec une baisse régulière du pourcentage de cellules à nombre modal bas (pseudodiploïdies) au profit de cellules à nombre modal élevé (hypotétraploïdies, de 70 à 80 chromosomes en moyenne). Il existe quelques endomitoses et quelques mitoses à nombre modal très élevé (de 150 à 160). Les anomalies de structure sont rares : pratiquement jamais d'isochromosome, quelques aspects d'endoréduplication sélective et d'échanges de chromatides, quelques cassures chromosomiques.

A la 102e et 113e subcultures, l'analyse chromosomique montre un profil totalement différent. La population cellulaire à nombre modal bas a disparu. Le nombre modal se situe entre 66 et 75 chromosomes. Mais surtout toutes les mitoses contiennent un ou plusieurs isochromosomes (jusqu'à 5 ou 6). De plus, 80 % des mitoses possèdent un ou plusieurs chromosomes biarmés de type submédian. Ce phénomène est curieux. Il peut s'expliquer en partie par une sélection progressive due à la culture, mais le mécanisme de formation des chromosomes biarmés, et notamment des isochromosomes, reste inconnu.

La deuxième culture établie que nous avons étudiée est celle de la tumeur portée par la souris 829. Il s'agit d'une première transplantation après passage en culture de la tumeur primaire S 724. L'animal 829 a reçu des cellules tumorales originaires de la deuxième subcuture.

Nous avons analysé le caryotype à la 2e, 22e, 23e, 32e, 60e, 69e, 78e, 108e et 121e subcultures 829.

Contrairement à la culture 840, nous avons toujours observé une double population cellulaire (pseudodiploïde et hypotétraploïde). Parfois on observe des mitoses à nombre modal très élevé (de 125 à 162) et quelques endomitoses.

Les anomalies de structure sont beaucoup plus rares. On ne note des chromosomes biarmés que de façon intermittente et dans un pourcentage bas. Il existe quelques endoréduplications sélectives et de curieuses images d'échanges de chromatides.

Le comportement de cette culture est donc logique, il ne semble pas y avoir eu de changement important au cours des nombreuses subcultures ; ce fait est peut-être dû à une première sélection lors du passage en culture de la tumeur primaire S 724.

En résumé, nous avons observé l'apparition d'isochromosomes au cours des diverses transplantations chez l'animal et au cours de la culture de la tumeur 840. Ces isochromosomes semblent dus à un défaut de séparation du centromère au cours de la mitose. Ils réalisent donc la somme de deux chromosomes télocentriques identiques. Nous avons peut-être eu la preuve de ce fait en produisant par hasard *in vitro* la formation d'isochromosomes.

Notre intention était de réaliser une expérience d'hybridation somatique *in vitro* entre les cellules 829 (22e subculture) et une souche de hamster $BHK_{21}C_{13}$ en utilisant le pouvoir fusionnant du virus sendaï inactivé. Après avoir réalisé le contact nécessaire entre les trois éléments, nous espérions pouvoir sélectionner les hybrides grâce à leur éventuel pouvoir de croissance en gélose semi-molle (456, 544). Ce mode de clonage ne nous a pas permis d'obtenir des hybrides, mais un certain nombre de clones de cellules de souris. Mais, alors que nous n'observions aucun chromosome biarmé dans la 22e subculture 829 dont dérivaient les clones, ces derniers contenaient de nombreux isochromosomes. Or nous observions aussi de très nombreuses images d'endomitoses, certainement dues au virus sendaï. Dans de nombreux cas, les chromosomes acrocentriques, non disjoints à la mitose, au lieu de rester côte à côte, s'opposaient, réalisant l'aspect typique d'isochromosomes (cf. figure n° 15).

Nous ne pensons pas que de telles images aient déjà été décrites dans les cellules murines. Ces phénomènes particuliers d'endomitose semblent responsables de la formation des isochromosomes que nous avons observée pour la souche clonée (souche K). On peut remarquer à ce propos les difficultés d'interprétation que peut apporter l'utilisation du virus sendaï dans les essais d'hybridation somatique.

Il est possible que les isochromosomes formés *in vivo* résultent d'un tel mécanisme. Il faut d'ailleurs remarquer que les différents passages de la tumeur S 724 montraient en plus ou moins grand nombre la présence de particules C qui pourraient être responsables d'un tel phénomène (cf. figure n° 16). Des images d'endomitoses ont d'ailleurs été observées au cours de ces passages.

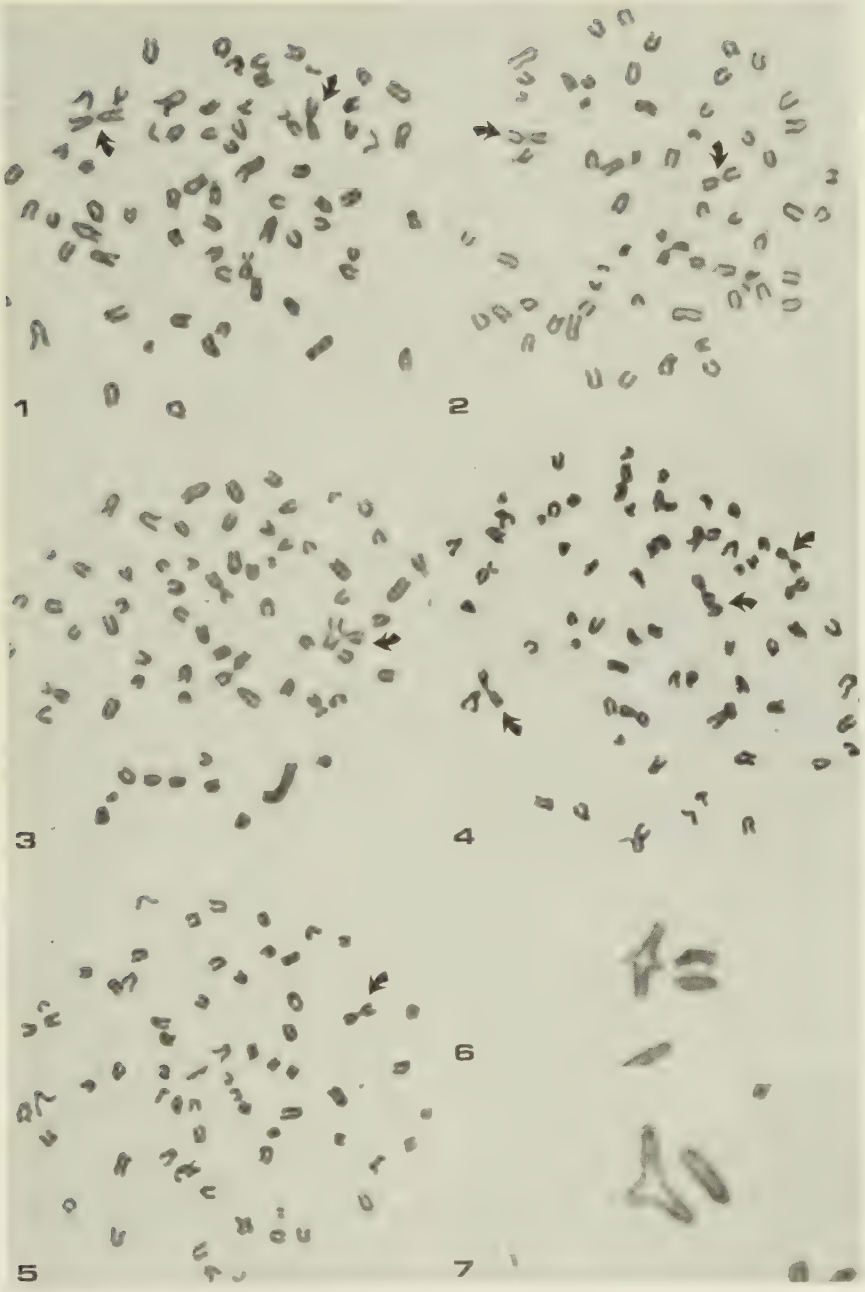

FIGURE N° 14

Aspect des différentes cellules :

1) - 2) - 3) - 4) - 5) : 840 à la 102e et 113e subculture :
— exemples de chromosomes biarmés ;
— endoréduplication sélective d'un isochromosome ;

6) - 7) : aspects d'échange de chromatides — culture 829.

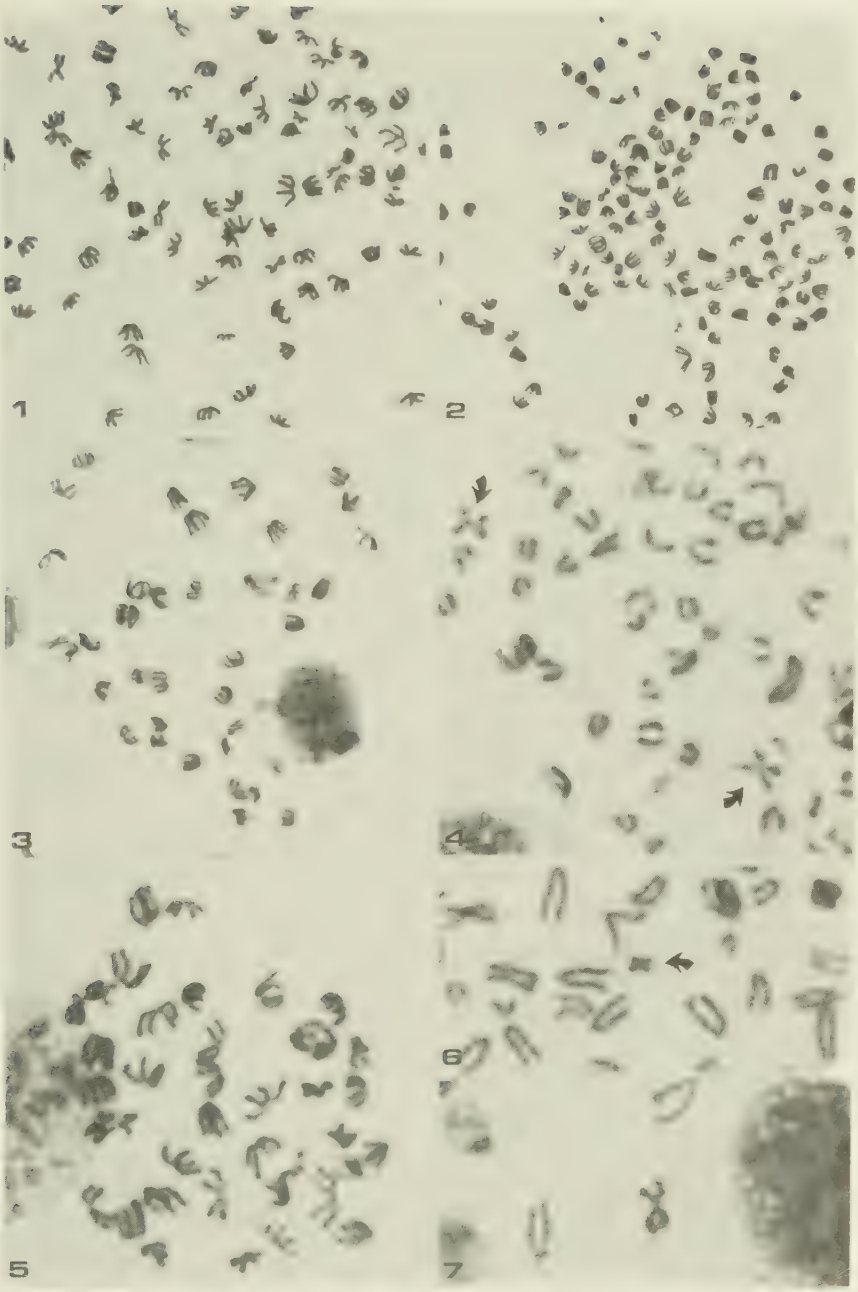

FIGURE N° 15

Clone K dérivant de la 22e subculture 829 :
1) - 2) - 3) - 5) : endomitoses avec des aspects d'isochromosomes.
4) -6) 7) : isochromosomes.

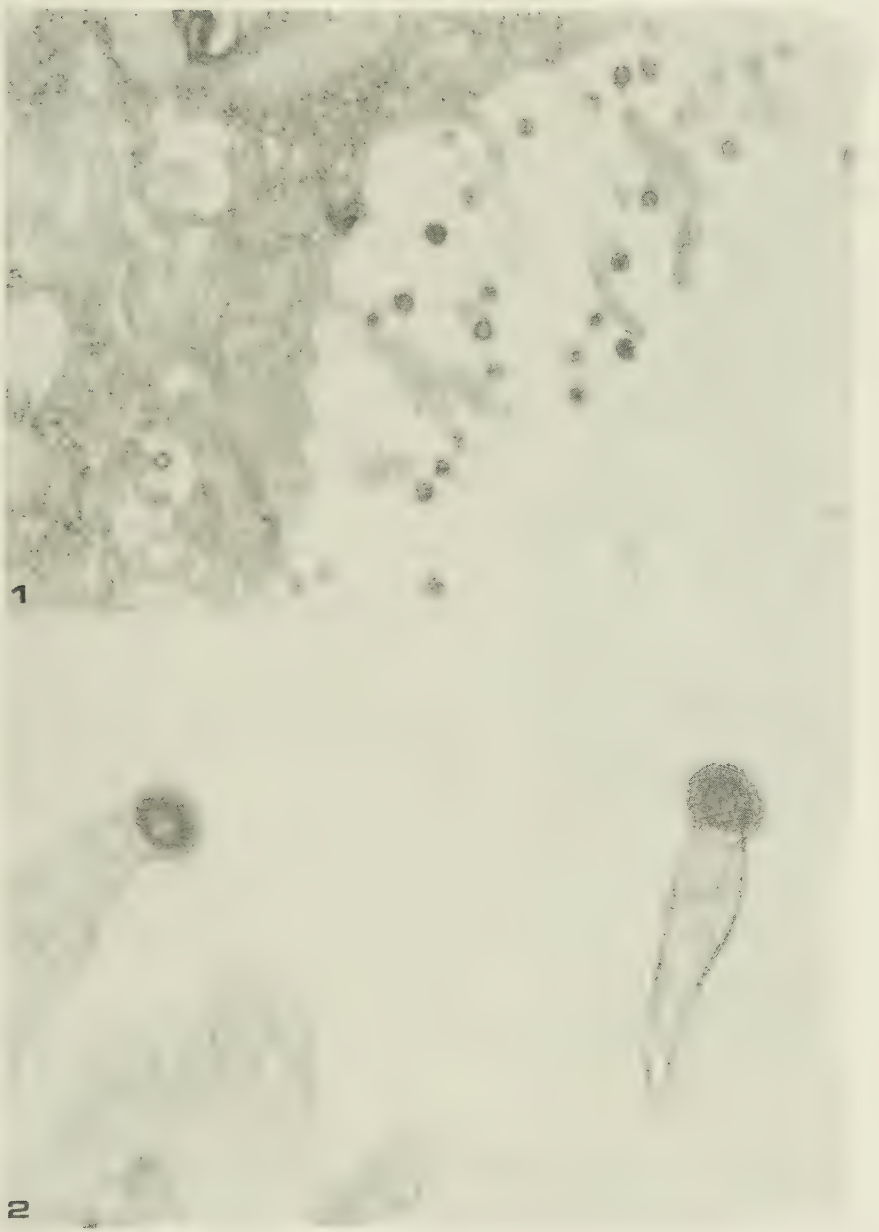

FIGURE N° 16

Particules de type C retrouvées dans les tumeurs S 724
(clichés dus à l'amabilité de M^me^ de Micco C.).

La présence d'un ou plusieurs chromosomes submédians dans les cultures 840 est plus difficilement explicable. Il peut s'agir d'un isochromosome ayant subi une inversion péricentrique ou une fusion centrique entre deux chromosomes acrocentriques de tailles différentes (phénomène de type Robertsonien).

En conclusion, nous pensons que l'étude cytogénétique régulière de la tumeur S 724 et de ses cultures nous a permis d'observer un phénomène original aboutissant à la formation de chromosomes biarmés si fréquents dans les cellules tumorales murines. Nous pensons que ce phénomène pourrait être dû à une propriété de certains centromères de chromosomes murins. Ces centromères semblent véritablement à l'extrémité des chromosomes contrairement au centromère des chromosomes télocentriques humains (présence de petits bras). Ce fait pourrait d'ailleurs être vérifié en essayant de produire des isochromosomes à partir d'autres cellules que les cellules murines.

7° Caractères immunologiques de la souche S 724 :

Les examens utilisant la technique d'immunofluorescence ont été réalisés par le Docteur Meyer G.

Il n'a pas été possible d'entreprendre une étude immunologique sur la culture de la tumeur primaire car elle a cessé de pousser trop tôt.

1) *Culture de la tumeur portée par la souris 829.*

• *Antigène viral :* nous ne l'avons pas retrouvé même après avoir utilisé des sérums antivirus polyome. Ceci est normal car la positivité de cette réaction ne se voit que dans le cycle lytique.

• *Antigène T :* il est mis en évidence par la technique d'immunofluorescence au niveau du noyau sous forme de mottes fluorescentes respectant le nucléole. C'est un des antigènes qui semble être le témoin de la présence du génome viral.

• *Antigène de membrane :* il se présente sous forme d'amas fluorescents d'aspect granuleux péricellulaires en « collier de perles ». Il semble que cet antigène ne soit pas unique. Le problème des antigènes de membrane est actuellement en pleine évolution. Quoi qu'il en soit, l'antigène de membrane virospécifique est présent sur la plupart des cellules dérivées de la lignée S 724. Cet antigène est révélé par des sérums d'animaux syngéniques protégés contre la transplantation de tumeurs induites par le virus polyome.

D'autres modifications de la membrane peuvent être signalées dans ce paragraphe :

— l'augmentation de la couche de polysaccharides acides (86, 120, 164),

— la modification de l'agglutinabilité par les lectines végétales, en particulier par la concanavaline A (communication personnelle de M. de Micco P.),

— des modifications spécifiques induisant la réaction de défense globale de l'organisme et conduisant au rejet de greffe, le T.A.T.A. spécifique du virus polyome (démontré par nos expériences personnelles).

2) *Culture de la tumeur portée par la souris 840.*

On retrouve les mêmes antigènes que ceux décrits précédemment.

La présence des néo-antigènes virospécifiques sur les cellules tumorales apporte une preuve supplémentaire de leur induction par le virus polyome.

8° Calcul de la dose tumorale 50 % :

Pour mieux analyser les résultats des différentes expériences, on essaie d'apprécier le pouvoir tumorigène d'une souche tumorale par le calcul de la dose tumorale 50 % (510). C'est la quantité de cellules qui, théoriquement, entraîne l'apparition d'une tumeur dans 50 % des animaux inoculés. Cette DT 50 % en général évolue au cours des différentes transplantations, en diminuant, c'est-à-dire que le pouvoir tumorigène de la souche tumorale augmente. C'est ce que nous avons observé pour la souche S 724.

Pour pouvoir effectuer ce calcul, plusieurs groupes d'animaux reçoivent différentes doses de cellules tumorales par voie sous-cutanée dorsale. Les animaux sont examinés deux fois par semaine. Au bout de deux mois, l'expérience est arrêtée. On compte le nombre des tumeurs.

Prenons par exemple le cas du premier calcul de la DT 50 %, effectuée au troisième passage. Cinq groupes de 5 animaux chacun reçoivent de 10^2 à 10^6 cellules par groupe (comme le montre le tableau n° 17).

Au bout de deux mois on remarque que la DT 50 % est comprise entre deux quantités de cellules injectées. Cette condition est nécessaire au calcul. La quantité la plus faible (ici 10^5) donne un premier aperçu du chiffre que l'on va trouver. En appliquant la méthode des totaux cumulatifs de Read et Munch, puis une formule mathématique, nous obtenons le chiffre de la DT 50 % avec une précision suffisante pour nos expériences (une meilleure précision pourrait être obtenue à partir d'une courbe tracée sur papier Log-probit). La formule utilise quatre

Nombre de cellules injectées	Nombre d'animaux	Animaux tumoraux	Animaux non porteurs de tumeurs	TOTAUX CUMULATIFS Tumeurs	Pas de tumeurs	RESULTATS	
10^2	5	0	5	0	19	0/19	0%
10^3	5	0	5	0	14	0/14	0%
10^4	5	0	5	0	9	0/9	0%
10^5	5	1	4	1 C	4 D	1/5	20%
10^6	5	5	0	6 A	0 B	6/6	100%

TABLEAU N° 17 : DT 50% = 749740 ≃ 750000 (3ème passage)

chiffres (A, B, C, D) des deux colonnes des totaux cumulatifs correspondant aux quantités de cellules encadrant la DT 50 % (dans la première colonne, chaque case représente le total des cases situées au-dessus, dans la deuxième colonne le total des cases situées au-dessous).

A : nombre d'animaux tumoraux correspondant à la dose la plus forte.

B : nombre d'animaux exempts de tumeur correspondant à la dose la plus forte.

C : nombre d'animaux tumoraux correspondant à la dose la plus faible.

D : nombre d'animaux non tumoraux correspondant à la dose la plus faible.

La formule permettant de calculer la décimale de la puissance de la dose la plus faible (10^5) est la suivante :

$$\frac{(A - B)(C + D)}{2(AD - BC)} \text{ soit } \frac{(6 - 0)(1 + 4)}{2(24 - 0)} = 0{,}625$$

La DT 50 % est donc $10^{5{,}62} = 749\,740$, c'est-à-dire environ 750.000 cellules ($7{,}5 \times 10^5$).

Comme le montre le tableau n° 18, la DT 50 % réalisée au 5e passage n'était plus que de 350.000 cellules ($3{,}5 \times 10^5$).

Le calcul de la DT 50 % au 13e passage n'a pas pu être effectué faute d'avoir encadré le chiffre recherché. Mais le tableau n° 19 montre que ce chiffre est à peine inférieur à 1.000 cellules (10^3).

Au dessous de 1.000 cellules, il est illusoire, par la méthode de comptage de cellules à l'hématimètre (appareil de Malassez ou de Thomas) d'effectuer un calcul sérieux de DT 50 % ; les erreurs commises dans le comptage des cellules sont trop importantes.

b) cellules tumorales CT 54

Il s'agit d'un fibrosarcome obtenu par injection de 4×10^6 U.F.P. de virus polyome chez un hamster nouveau-né (le n° 54). Cette tumeur s'est avérée facilement transplantable par injection d'une suspension de cellules tumorales par voie sous-cutanée dorsale (523). Cette suspension est obtenue par trypsination et séparation mécanique des cellules composant le tissu tumoral. Les différents caractères de cette tumeur ont été étudiés précédemment (441). Les résultats immunologiques sont comparables à ceux obtenus pour la S 724.

c) cellules tumorales STpy

La tumeur ST_{py} a été obtenue dans notre laboratoire par M^lle^ Pons L. après injection du hamster doré nouveau-né 4943 avec 10^7 U.F.P. de virus polyome. Au bout de 56 jours l'animal est porteur d'une tumeur sous-cutanée, d'une tumeur péricardique et d'une tumeur rénale. Ces tumeurs sont mises en culture. Puis les cellules tumorales sont injectées à des hamsters adultes. On obtient ainsi une lignée transplantable appelée ST_{py}. On en est actuellement à la 12^e^ transplantation.

L'étude histologique réalisée par Bonneau H. (C.R.A.C.M. 57.838 à 57.842) a montré que l'animal 4943 était porteur d'un fibrosarcome sous-cutané dorsal, d'un fibroangiosarcome péricardique et d'un sarcome rénal avec un stroma modifié. Au cours des différentes transplantations l'aspect histologique est celui d'un fibrosarcome à grosses cellules. Les cellules sont fusiformes ou ovoïdes, volumineuses, serrées les unes contre les autres. Le stroma est presque inexistant. Cette tumeur est envahissante et métastase souvent.

En culture (C.R.A.C.M. 60.952), on observe un aspect fibroblastique jeune, très prolifératif. Les chevauchements sont nombreux, mais les anomalies nucléaires sont rares, les polycaryons peu nombreux.

L'étude structurale réalisée par M^me^ de Micco C. confirme la nature sarcomateuse de la tumeur. Celle-ci est essentiellement constituée de fibroblastes métaboliquement très actifs comme en témoigne le développement du réticulum ergastoplasmique, l'appareil de Golgi et les images d'excrétion de microfilaments. Cependant il existe également un certain nombre de cellules qui pourraient correspondre à des aspects endothéliaux. Ce fait est suggéré par la richesse en jonctions cellulaires, en lysosomes et vésicules de pinocytose, en microfilaments et microtubules.

En culture, les cellules prennent un aspect fusiforme à noyau central ovoïde. Le cytoplasme est infiniment moins riche en organites, notamment en réticulum ergastoplasmique et en ribosomes en rosettes (polysomes). Des microfilaments sont encore présents mais en moins grand nombre. Cet aspect correspond à celui de fibroblastes en état de repos métabolique.

Nous avons, pour notre part, réalisé l'étude cytogénétique de la tumeur ST_{py} en analysant 104 mitoses. 98 mitoses ont un nombre modal compris entre 43 et 51. L'histogramme révèle d'ailleurs un pic très net à 46 chromosomes. Il existe quelques rares mitoses (6) pseudo-tétraploïdes dont le nombre modal varie de 89 à 95.

On observe aussi un certain nombre d'anomalies de structure en plus des cassures chromatidiennes et des chromosomes minutes que l'on rencontre souvent dans les tumeurs expérimentales.

Nombre de cellules injectées	Nombre d'animaux	Animaux tumoraux	Animaux non porteurs de tumeurs	TOTAUX CUMULATIFS		RESULTATS	
				Tumeurs	pas de tumeurs		
5.10^3	5	0	5	0	9	0/9	0%
5.10^4	5	2	3	2	4	2/6	33%
5.10^5	5	5	0	7	1	7/8	85%
5.10^6	5	4	1	11	1	11/12	92%

TABLEAU N° 18 : DT 50 % = 335585 ≃ 350000 (5ème passage)

Nombre de cellules injectées	Nombre d'animaux	Animaux tumoraux	Animaux non porteurs de tumeurs	TOTAUX CUMULATIFS		RESULTATS	
				Tumeurs	Pas de tumeurs		
10^3	6	4	2	4	3	4/7	57%
10^4	5	4	1	8	1	8/9	89%
10^5	6	6	0	14	0	14/0	100%
10^6	5	5	0	19	0	19/0	100%
10^7	6	6	0	25	0	25/0	100%

TABLEAU N° 19 :DT 50% au 13ème passage (environ 10^3 cellules)

Trois mitoses possèdent un chromosome en anneau, dont un est dicentrique.

Dix mitoses possèdent un chromosome dicentrique et une deux chromosomes dicentriques.

Ces anomalies de structure sont rencontrées dans la population cellulaire majoritaire à nombre modal bas.

L'examen cytogénétique de la tumeur ST_{py} montre que l'on est en présence d'une tumeur possédant un nombre modal nettement aberrant de 46 chromosomes plus ou moins 3. Cette tumeur se caractérise aussi par la présence de chromosomes dicentriques dans plus de 10 % des mitoses examinées.

Le Docteur MEYER G. a montré que les cellules ST_{py} portaient l'antigène de membrane et l'antigène T spécifique du virus polyome. Le T.A.T.A. a été facilement mis en évidence par des expériences de protection utilisant le virus polyome.

M^lle^ PONS L. a montré que la DT 50 % se situait au-dessous de 10^3 cellules, chiffre au-dessous duquel il est impossible d'effectuer un calcul de façon valable. Cette DT 50 % basse exprimant la grande tumorigénicité de la ST_{py} s'explique par la sélection qui a eu lieu lors de la mise en culture de la tumeur primaire. Le pouvoir tumorigène d'une lignée augmente pratiquement toujours après le passage en culture.

II - LES EXPERIENCES REALISEES

A - **Protection xénogénique du hamster contre la tumeur CT 54**

B - **Protection de la souris AKR contre la tumeur S 724**

C - **Essai d'immunothérapie après tumorectomie dans le système souris AKR-tumeur S 724**

D - **Influence du temps de latence sur la réaction du rejet de greffe par le virus polyme**

E - **Essai d'immunothérapie par le virus polyme dans le système hamster-tumeur ST_{py}**

F - **Discussion**

A - PROTECTION XENOGENIQUE DU HAMSTER CONTRE LA TUMEUR CT 54

Nous possédons deux souches tumorales qui portent le même T.A.T.A. : l'une de hamster (CT 54), l'autre de souris (S 724). Ce néo-antigène de rejet de greffe est spécifique de l'induction par le virus polyome. Nous avons voulu apprécier l'effet protecteur des cellules de souris S 724 contre la tumeur CT 54. Nous espérions que le caractère xénogénique entraînerait un effet antitumoral supérieur ou au moins égal aux injections de virus polyome. Nous pensions que les antigènes d'histocompatibilité portés par la membrane cellulaire des cellules de souris agiraient comme adjuvant pour le déterminant plus faible qu'est le T.A.T.A. (91). SCHIERMAN L.W. et MAC BRIDE R.A. (655) ont mis en évidence un phénomène similaire à propos des réactions immunitaires contre les déterminants des groupes sanguins. Ces auteurs ont montré que si on introduit les déterminants A sur des cellules incompatibles pour le groupe B, le nombre de cellules productrices d'anticorps anti A augmente considérablement.

Pour essayer d'obtenir un tel résultat, nous avons conduit deux types d'expérience.

a) Protocoles expérimentaux :

1° PREMIER PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL : 60 hamsters dorés adultes d'un mois et demi sont répartis en trois lots de 20 animaux chacun.

- Le premier lot reçoit 2×10^6 cellules S 724 en culture (venant de l'animal 840) de la 13e subculture. Cette injection est faite sous un volume de 0,5 ml par voie sous-cutanée dorsale.

- Le deuxième lot reçoit 10^6 U.F.P. de virus polyome par la même voie.

- Le troisième lot est un lot témoin, les animaux ne reçoivent pas d'injection.

Trois semaines après ces injections immunisantes protectrices, chaque lot est divisé en quatre séries (de 5 animaux chacune) recevant une charge tumorale différente choisie en fonction du dernier calcul de la DT 50 %.

- Les séries A reçoivent 18×10^4 cellules tumorales CT54 (1 DT 50 %) par voie sous-cutanée dorsale.

• Les séries B 18×10^5 cellules tumorales CT54 (10 DT 50 %) pour la même voie.

• Les séries C 18×10^6 cellules tumorales CT54 (100 DT 50 %).

• Les séries D 18×10^7 cellules tumorales CT54 (1.000 DT 50 %).

Les animaux sont ensuite examinés régulièrement pour noter la date d'apparition des tumeurs.

2° Deuxième protocole expérimental :

65 hamsters adultes de 3 mois sont répartis en 4 lots :

— 15 animaux reçoivent 10^7 cellules tumorales S 724 venant du sixième passage.

— 15 animaux reçoivent 10^8 cellules tumorales S 724 du même passage.

— 15 animaux reçoivent 10^6 U.F.P. de virus polyome.

Ces injections immunisantes sont pratiquées par voie sous-cutanée dorsale sous un volume de 0,5 ml.

— 20 animaux ne reçoivent rien, ce sont des animaux témoins.

Trois semaines après ces injections protectrices, chaque lot est divisé en trois séries, sauf le lot témoin qui en contient quatre. Chaque série est composée de 5 hamsters.

Les séries A reçoivent 18×10^4 cellules tumorales CT54 (1 DT 50 %) par voie sous-cutanée dorsale.

Les séries B reçoivent 18×10^5 cellules tumorales CT54 (10 DT 50 %) par la même voie.

Les séries C reçoivent 18×10^6 cellules tumorales CT54 (10 DT 50 %) par la même voie.

Une série témoin A' ne reçoit que 18×10^3 cellules tumorales CT54 (0,1 DT 50 %).

De la même façon, les animaux sont examinés régulièrement.

Ils sont autopsiés deux mois après la charge tumorale ; si un animal décède avant on effectue une vérification histologique.

b) Résultats :

1° Première expérience :

Le tableau n° 20 résume les résultats quant à la présence ou l'absence de tumeurs. Il n'y a pas eu de protection par l'injection de cellules tumorales de souris en culture.

	$18x10^4$	$18x10^5$	$18x10^6$	$18x10^7$	TOTAL
$2x10^6$ cellules S 724 en culture	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20
10^6 U.F.P. de virus polyome	2/5	4/5	4/5	5/5	15/20
Témoins	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20

TABLEAU N° 20 : Résultats de la première expérience (rapport des animaux tumoraux sur le nombre total d'animaux par série).

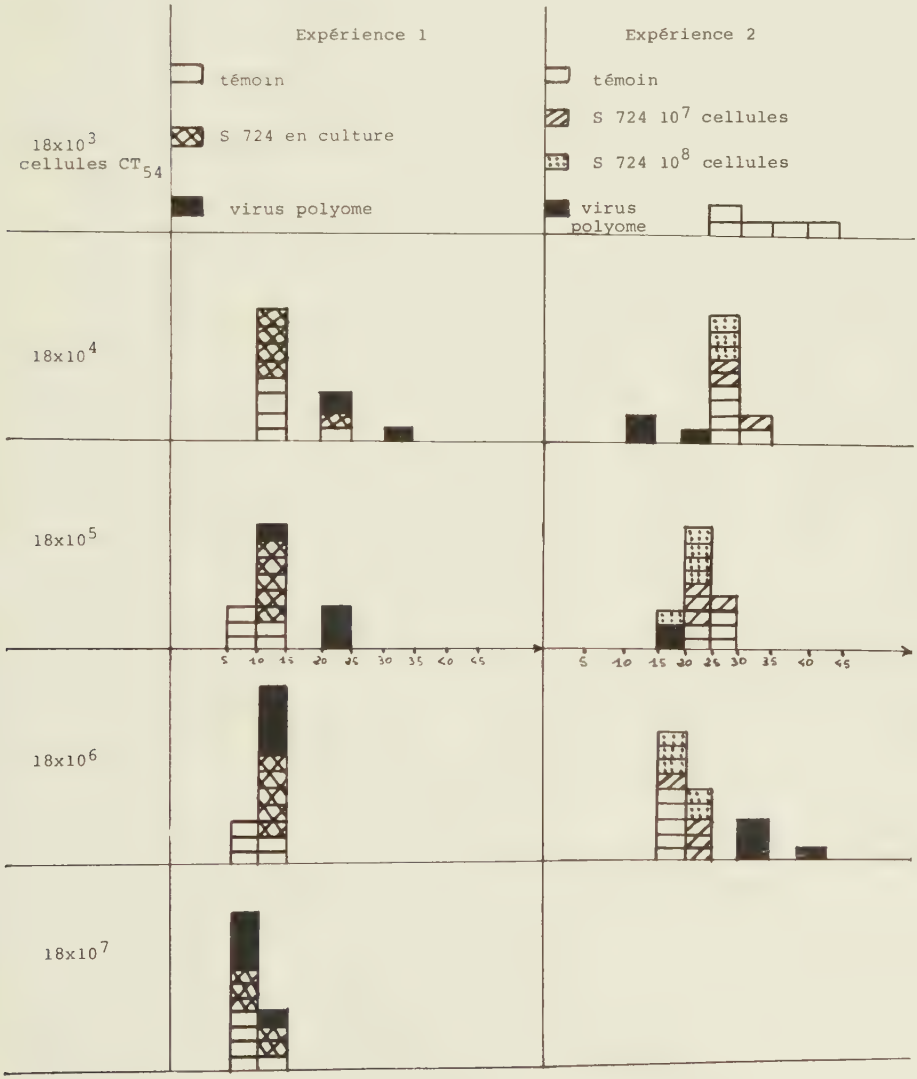

TABLEAU N° 21 TEMPS D'APPARITION DES TUMEURS

	$18x10^4$	$18x10^5$	$18x10^6$	$18x10^7$	$p<0,01$
$2x10^6$ cellules S 724 en culture	60,8	66	66	86,4	N.S.
10^6 U.F.P. de virus polyome	14,4	37,5	52,8	93,2	H.S.
Témoins	60,8	66,4	66,4	93,2	

TABLEAU N° 22

Moyennes des inverses des temps d'apparition des tumeurs - Première expérience.

N.S. = non significatif
H.S. = hautement significatif

Naturellement la protection par le virus polyome a été bonne, cela d'autant plus que la tumorigénicité de la tumeur CT 54 est bien plus importante que ne le laissait supposer le dernier calcul de la DT 50 %. La présence de tumeurs chez tous les animaux témoins nous montre que cette DT 50 % doit être très inférieure à 18×10^4 cellules, la protection observée en est d'autant meilleure.

Nous avons aussi tenu compte du temps d'apparition des tumeurs. Le tableau n° 21 nous rend compte des résultats pour les deux expériences.

Les histogrammes sont construits en portant en abscisses les temps d'apparition des tumeurs de 5 jours en 5 jours, et en ordonnées le nombre d'animaux pour un intervalle de 5 jours. Chaque case correspond à une série. Nous pouvons ainsi juger l'effet des injections immunisantes sur les animaux tumoraux. Pour un lot choisi s'il y a une tendance à la protection les temps sont plus longs que ceux des témoins, donc situés à droite ; s'il y a une tendance à la facilitation, les temps sont plus courts que ceux des témoins, donc situés à gauche ; si les temps sont égaux à ceux des témoins, il n'y a pas d'effet.

Ainsi nous observons une protection des animaux ayant reçu des injections de virus polyome pour des doses tumorales moyennes (18×10^4 et 18×10^5 cellules). Pour des doses plus importantes, il ne semble pas y avoir de différence entre les témoins et les essais (18×10^6 et 18×10^7 cellules).

Il n'y a pas de différence non plus pour toutes les séries d'animaux ayant reçu les cellules S 724 en culture.

On peut remarquer sur ces histogrammes que les temps de la première expérience sont plus courts que ceux de la deuxième bien que les examens cliniques aient été faits par le même expérimentateur dans les mêmes conditions. Nous pensons que le jeune âge des animaux de la première expérience (1 mois 1/2) peut expliquer cette différence témoin, peut-être, d'une relative immaturité immunologique.

Cette différence n'est pas due à une diminution de la tumorigénicité au cours de la deuxième expérience puisque, nous le verrons, celle-ci a augmenté.

Mais l'étude des temps d'apparition des tumeurs ne tient pas compte des animaux indemnes de tout processus tumoral. Pour sensibiliser la méthode on calcule les inverses des temps d'apparition des tumeurs qui pour les animaux non tumoraux sont égaux à 0 ($1/\infty$) (510, 512). On a soumis ces résultats à l'analyse statistique. Le tableau n° 22 montre les moyennes des inverses des temps d'apparition des tumeurs. Le test de Snedecor confirme l'effet nul des cellules S 724 en culture mais fait apparaître une protection hautement significative pour le virus polyome (pour un $P < 0{,}01$). (Toutes nos analyses statistiques ont été aimablement réalisées par M. Bourrely P. dans le Laboratoire de la Faculté de Médecine de M. Fondaral.)

2° Deuxième expérience :

Comme le montre le tableau n° 23, tous les animaux témoins sont porteurs de tumeurs. La DT 50 % est donc inférieure à 18×10^3 cellules. Cet important pouvoir tumorigène de la CT 54, un peu inattendu, augmente la valeur des éventuels effets protecteurs observés.

Ainsi la protection par les cellules S 724 n'est pas négligeable, peut être plus importante à dose moyenne (10^7 cellules) qu'à dose plus forte (10^8 cellules). Dans le premier lot, deux animaux sont morts 14 et 18 jours après l'injection de cellules tumorales CT 54. L'autopsie n'a pas montré la présence de tumeur, mais ces animaux ont dû être exclus de l'expérience.

La protection par le virus polyome est excellente compte tenu des remarques faites sur la tumorigénicité de la tumeur CT 54. Un animal a été exclu de l'expérience car il est mort 7 jours après la charge tumorale. L'autopsie n'a pas révélé de lésion tumorale.

L'étude des temps d'apparition des tumeurs (tableau n° 21), comme pour la première expérience, montre une baisse régulière des temps avec l'augmentation des doses tumorales. Il ne semble pas y avoir d'effet notable des injections cellulaires xénogéniques sur le temps d'apparition des tumeurs (nous rappelons que ces histogrammes ne tiennent pas compte des animaux non tumoraux).

Pour le groupe ayant reçu les injections de virus polyome on note une tendance à la facilitation pour la dose tumorale faible (18×10^4 cellules), un effet à peu près nul mais avec des temps à gauche des témoins pour la dose tumorale moyenne (18×10^5 cellules) et une tendance à la protection pour la forte dose tumorale (18×10^6 cellules).

Les inverses des temps d'apparition, tenant compte des animaux non tumoraux, montrent qu'un effet protecteur significatif existe aussi bien pour les animaux traités par les cellules tumorales xénogéniques que par le virus polyome (tableau n° 24).

Les derniers histogrammes (tableau n° 25) montrent les inverses des temps d'apparition des tumeurs pour les deux expériences des animaux témoins et des animaux immunisés par le virus polyome.

Ces schémas confirment la bonne protection obtenue pour l'expérience 1 et les résultats curieux de l'expérience 2. On observe une facilitation pour les animaux tumoraux traités par le virus polyome et ayant reçu une charge tumorale moyenne (18×10^4 et 18×10^5 cellules). L'effet protecteur pour la dose forte (18×10^6 cellules) est confirmé.

	$18x10^3$	$18x10^4$	$18x10^5$	$18x10^6$	TOTAL
10^7 cellules S 724		3/4	4/4	4/5	11/13
10^8 cellules S 724		3/5	5/5	5/5	13/15
10^6 U.F.P. de virus polyome		3/5	2/4	4/5	9/14
Témoins	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20

TABLEAU N° 23

Résultats de la deuxième expérience
(rapport des animaux tumoraux sur le nombre total d'animaux par série).

	$18x10^4$	$18x10^5$	$18x10^6$	P= 0,05
10^7 cellules S 724	25,4	38,8	39,7	S
10^8 cellules S 724	21,4	44,1	52,5	S
10^6 U.F.P. de virus polyome	44,1	30,2	22,2	S
Témoins	39,9	49,9	69,7	

TABLEAU N° 24

Moyennes des inverses des temps d'apparition des tumeurs - Deuxième Expérience.

S= significatif.

TABLEAU N° 25

INVERSES DES TEMPS D'APPARITION DES TUMEURS

c) **Discussion :**

Ces expériences nous montrent que la protection par le virus polyome est très importante dans notre système expérimental hamster syrien-tumeur CT 54.

Les cellules xénogéniques de souris S 724 porteuses du même T.A.T.A. que la CT 54 ont un pouvoir protecteur moindre que le virus mais non négligeable.

On ne peut pas affirmer que les cellules en culture n'ont aucun pouvoir protecteur car la dose employée est peut-être trop faible.

Si les cellules xénogéniques ont un pouvoir un peu moins protecteur que le virus, on n'a pas mis en évidence de tendance à la facilitation. Cet effet facilitant, un peu inattendu du virus polyome, peut se concevoir en admettant l'hypothèse de la balance immunitaire d'HELLSTRÖM. La sollicitation immunologique a pu se faire au profit des anticorps humoraux bloquants. Nous avons déjà discuté cette hypothèse. Quoi qu'il en soit, ce fait souligne, s'il était nécessaire, les dangers de toute immunothérapie. A propos des injections de virus, il faut remarquer l'impossibilité d'utiliser du virus non inactivé à cause du danger de tumeur primaire. Cette oncogénicité est rare chez l'animal adulte mais elle existe. Nous avons retrouvé lors des autopsies systématiques une micro-tumeur paracardiaque à type de fibrosarcome (deuxième expérience).

Conclusion :

Dans notre étude de l'immunothérapie active spécifique, nous pensons que les expériences de protection réalisent un test préliminaire excellent. Nous avons comparé l'effet protecteur de cellules xénogéniques à l'excellente protection due au virus polyome. Dans notre système expérimental hamster-tumeur CT 54, nous avons montré que les cellules xénogéniques de souris S 724 ont un pouvoir protecteur intéressant, mais moins important que celui du virus polyome. Par contre, nous n'avons noté aucune facilitation avec les injections cellulaires contrairement à certaines injections de virus.

Nous pouvons donc essayer l'utilisation des cellules xénogéniques dans des expériences d'immunothérapie active spécifique.

B - PROTECTION DE LA SOURIS AKR CONTRE LA TUMEUR S 724

Notre intention était de comparer l'effet protecteur des différents agents, non seulement entre eux, mais aussi par rapport à l'efficacité des injections de virus polyome. Pour cela nous avions prévu trois séries d'animaux par lot. Chaque série reçoit respectivement 1 DT 50 %, 10 DT 50 % et 100 DT 50 % (la DT 50 % étant avant l'expérience

de $3,5 \times 10^5$ cellules tumorales S 724). L'injection protectrice est pratiquée un mois avant la charge tumorale et répétée deux fois à deux semaines d'intervalle, sauf pour l'injection de virus polyome (injection unique). Malheureusement un nombre important de décès avant la charge tumorale nous a obligé à modifier les doses de cellules S 724 pour quatre lots et de réduire le nombre de séries prévu. De ce fait, la comparaison des résultats est difficile, mais nous pensons néanmoins que l'expérience mérite d'être rapportée. Les animaux témoins nous ont permis d'évaluer une nouvelle DT 50 % nous permettant d'apprécier la tumorigénicité de la tumeur S 724 pendant l'expérience. Cette nouvelle DT 50 % est d'environ $2,5 \times 10^5$. Ce résultat a été obtenu au 8e passage, trois passages après le précédent calcul de la DT 50 %, et confirme l'augmentation de la tumorigénicité au cours des différentes transplantations (cf. tableau n° 26).

Comme le montre le tableau n° 27, le premier lot essai représente le symétrique de la première expérience de protection réalisée chez le hamster. Nous avons essayé de protéger les souris AKR par l'injection de cellules xénogéniques de hamster CT 54. Ces injections ont été réalisées à trois reprises (10^6 cellules par injection, sous un volume de 0,5 ml) à deux semaines d'intervalle dans le mois précédant la charge tumorale. Les résultats globaux ne montrent pas d'effet protecteur très important.

Le deuxième lot essai comportait une séquence d'injections protectrices identiques avec des cellules allogéniques C5. Les cellules C5 dérivent d'une tumeur parotidienne obtenue chez une souris C_3H par injection à la naissance de virus polyome. Cette tumeur a été produite par le Docteur Negroni et c'est le Docteur Bomford R. qui a eu l'amabilité de nous confier la lignée cellulaire (Imperial cancer research fund London).

L'effet protecteur de ces cellules portant le T.A.T.A. spécifique du virus polyome (comme pour la CT 54) est supérieur au premier lot essai, mais encore limité. On peut remarquer qu'un animal (le n° 1190) chargé avec la forte dose tumorale présentait une métastase pulmonaire sous-pleurale.

Le troisième lot est celui des animaux protégés par l'injection unique de 10^6 U.F.P. de virus polyome un mois avant la charge tumorale. La protection obtenue est excellente puisque 80 % des animaux sont protégés même à une dose aussi importante que $7,5 \times 10^6$ cellules tumorales S 724 (ce qui correspond à 40 DT 50 %).

Le quatrième lot reçoit des injections protectrices selon un rythme identique aux deux premiers lots. Les cellules tumorales S 724 sont rendues non proliférantes par une irradiation préalable (3.000 ergs/mm^2 de rayons U.V.). Nous avons pratiqué une expérience préliminaire pour déterminer la dose d'irradiation nécessaire pour éviter toute prolifération cellulaire. Comme le montre le tableau n° 28, nous avons mis les cellules

Nombre de cellules injectées	Nombre d'animaux	Animaux tumoraux	Animaux non porteurs de tumeurs	TOTAUX CUMULATIFS		RESULTATS	
				Tumeurs	Pas de tumeurs		
$3,5 \times 10^4$	5	3	2	3	4	3/7	43%
$3,5 \times 10^5$	5	5	0	8	2	8/10	80%
$3,5 \times 10^6$	4	3	1	11	2	11/13	85%
$3,5 \times 10^7$	5	4	1	15	1	15/16	94%

TABLEAU N° 26 : DT 50% =238430 ≃ 250000 (8ème passage)

	$1,75 \times 10^6$	$10,5 \times 10^6$	Total
10^6 CT_{54}	4/4	2/4	6/8
10^6 C_5	2/3	3/4	5/7
10^6 U.F.P. virus polyome	1/5	1/5	2/10
10^6 cellules S 724 irradiées	2/4	3/3	5/7

	$3,5 \times 10^4$	$3,5 \times 10^5$	$3,5 \times 10^6$	$3,5 \times 10^7$	Total
Extraits membranaires S 724		2/4	5/5	4/5	11/14
Témoins	3/5	5/5	3/4	4/5	15/19

TABLEAU N° 27 : Résultats de l'expérience de protection de la souris AKR contre la tumeur S 724.

	5×10^5 cellules S 724	10^6 cellules S 724
Témoin	+	+
Irradiation 100ergs/mm2	0	+
1000 ergs/mm2	0	$\overset{+}{-}$
3000 ergs/mm2	0	0

TABLEAU N° 28 : Appréciation de l'effet inhibiteur des rayons U.V. sur la croissance in vitro des cellules S 724 (tumeur provenant du 6ème passage, souris 1018)

+ : croissance normale

$\overset{+}{-}$: ralentissement très net

0 : croissance nulle

S 724 dans des boîtes de Pétri et, après diverses irradiations, nous avons noté la croissance cellulaire *in vitro*. Les mesures de rayonnement ont été effectuées grâce à l'appareil de LATARJET R. et col. (423).

L'effet protecteur de ce type de traitement n'est pas très important, quoique non négligeable pour la dose la plus faible.

Le cinquième lot reçoit des injections d'extraits membranaires de cellules tumorales S 724. Ces extraits, aimablement préparés par M^lle^ BIRG Françoise, sont obtenus à partir d'un groupe de tumeur. Chaque animal reçoit les extraits provenant de trois grammes de tumeur environ (tumeur de la taille d'une petite noix). Il y a en tout trois injections à une semaine d'intervalle, chaque injection étant réalisée sous un volume de 0,5 ml. L'ensemble des injections pour tous les groupes est réalisé par voie sous-cutanée dorsale. L'effet protecteur des extraits membranaires n'est pas très important bien que non négligeable pour la série ayant reçu une faible dose tumorale.

Le dernier groupe est un groupe témoin ayant permis de calculer la dose tumorale 50 % correspondant à l'expérience.

L'étude des temps d'apparition des tumeurs montre que l'effet protecteur des différents traitements existe aussi pour les animaux porteurs de tumeurs, mais la différence des doses tumorales nous empêche d'envisager ce critère de façon rigoureuse.

En conclusion, nous pouvons remarquer que l'effet protecteur du virus polyome contre la tumeur S 724 est très important alors que les autres agents immunogènes n'ont qu'une action très limitée.

C - ESSAI D'IMMUNOTHERAPIE APRES TUMORECTOMIE DANS LE SYSTEME SOURIS AKR-TUMEUR S 724

Notre but était de réaliser de véritables traitements immunologiques par injections séquentielles d'agents immunitaires tous les cinq jours pendant 105 jours après l'ablation chirurgicale de la tumeur. Le principe de ce protocole expérimental est calqué sur celui des expériences de traitement interférenciel de la tumeur du hamster réalisées dans notre laboratoire (87).

120 souris AKR, adultes, reçoivent 3×10^6 cellules de la souche tumorale S 724. Les animaux sont ensuite répartis au hasard dans cinq lots de 24 souris chacun.

Le premier lot est un lot témoin. Les souris ne reçoivent aucun traitement et ne sont pas tumorectomisées. L'évolution de l'ensemble de nos animaux est appréciée par un examen clinique bihebdomadaire (en dehors de l'examen pratiqué les jours des injections immunitaires pour les autres lots).

Le deuxième lot se caractérise par l'absence de traitement immunitaire. On pratique seulement une tumorectomie. Pour tous nos animaux l'ablation chirurgicale est effectuée lorsque les tumeurs atteignent la taille d'une noisette. Les souris sont tout d'abord anesthésiées, selon la méthode déjà décrite, puis les tumeurs situées sur le dos de l'animal sont excisées le plus soigneusement possible. L'ensemble de l'intervention et la suture cutanée sont effectuées selon des méthodes inspirées des méthodes chirurgicales habituelles.

Le troisième lot est celui des animaux traités par des extraits de « culot » de tumeurs S 724. Ce traitement survenant naturellement après tumorectomie. Chaque traitement pour un animal correspond à une tumeur de taille moyenne (3 grammes environ).

Nous avons voulu apprécier la capacité immunitaire du culot cellulaire que nous rejetions lorsque nous préparions les extraits acellulaires pour expérimenter les traitements interférenciels (87). Nous avons donc préparé des extraits de tumeurs S 724 par la méthode habituelle, récupéré le culot qui est ensuite resuspendu dans un liquide physiologique et irradié aux rayons U.V. à 3.000 ergs/mm^2 (cf. expérience annexe réalisée au paragraphe B). Le conditionnement de chaque injection est de 0,5 ml comme pour tous les lots. 20 injections par voie sous-cutanée dorsale sont prévues.

Le quatrième lot est celui des animaux recevant, après tumorectomie, des injections de cellules tumorales S 724 irradiées. Ces cellules sont irradiées avec 300 ergs/mm^2 de rayons U.V. 20 injections à 5 jours d'intervalle sont prévues. Chaque animal reçoit, par voie sous-cutanée dorsale, à chaque injection, 10^5 cellules irradiées sous un volume de 0,5 ml.

Le cinquième et dernier lot, après tumorectomie, reçoit des injections de cellules xénogéniques de hamster (CT 54). 20 injections à 5 jours d'intervalle sont prévues. Chaque animal reçoit, par voie sous-cutanée dorsale, à chaque injection, 10^5 cellules CT 54 sous un volume de 0,5 ml.

Les animaux sont examinés régulièrement et chaque fois que cela est possible un contrôle anatomo-pathologique est pratiqué sur les souris décédées.

Les résultats principaux sont représentés dans les tableaux n° 29 et n° 30.

Les animaux du premier groupe (groupe témoin) ont une évolution à peu près homogène. Trois souris n'ont pas présenté de tumeurs ; deux sont mortes rapidement, 5 à 7 jours après la charge tumorale, sans que l'examen anatomopathologique n'apporte la preuve du développement tumoral ; la troisième souris était vivante à la fin de l'expérience et ne présentait aucun processus tumoral sans que ce fait puisse être expliqué. Nous pouvons exclure de notre expérience les deux animaux morts avant 7 jours d'évolution.

	survie moyenne	Récidives après tumorectomie
Premier groupe : Témoin	43 j	
Deuxième groupe : Tumorectomie seule	84,5 j	45 j
Troisième groupe : Culot tumoral	72,1 j	55,3 j
Quatrième groupe : cellules S 724 irradiées	84,5 j	39,3 j
Cinquième groupe : cellules xénogéniques CT_{54}	84,2 j	40,6 j

TABLEAU N° 29 : Temps de survie moyen.

Deuxième groupe : tumorectomie seule	5/19	26,3%
Troisième groupe : culot tumoral	7/15	46,6%
Quatrième groupe : cellules S 724 irradiées	5/16	31,2%
Cinquième groupe : cellules xénogéniques CT_{54}	3/16	18,7%

TABLEAU N° 30 : Récidives tumorales(nombre d'animaux tumoraux sur nombre total)

On peut donc remarquer que 96 % des animaux sont tumoraux. Le temps de survie moyen est de 43 jours (si on élimine de ce calcul la souris vivante à la fin de l'expérience, le temps d'évolution moyen des tumeurs est de 35,5 jours).

Lorsque nous avons pratiqué les tumorectomies nous avons observé un certain nombre de décès dus à l'acte chirurgical. Les souris AKR sont très fragiles et un peu moins de 20 % des souris sont mortes des suites opératoires. On peut admettre que les animaux morts dans les cinq jours après l'intervention font partie des accidents opératoires.

Dans le deuxième groupe, il reste 19 animaux en expérience. Cinq souris présentent une récidive tumorale, soit 26,3 %. Ce pourcentage un peu inattendu de l'efficacité de l'acte chirurgical souligne la valeur de cette thérapeutique, même chez l'animal, mais rend délicate l'interprétation des résultats des autres groupes. Le temps de survie moyen après tumorectomie est de 84,5 jours. Ce temps n'est pas absolument comparable à celui du premier groupe témoin puisque l'expérience est arrêtée par convention 105 jours après les tumorectomies. A cette date les animaux sont âgés de 5 mois 1/2 à 6 mois, ce qui est bien en-deçà de la date de décès spontané. Ce temps de survie est donc sous-estimé, d'autant plus que le temps qui sépare l'injection tumorale de la tumorectomie n'est pas inclus dans le calcul. Il pourra être comparé avec le temps moyen de survie des autres groupes essais. Remarquons néanmoins, que même sous-estimé, ce temps est nettement supérieur à celui du premier groupe. L'acte chirurgical a été très efficace.

Le temps de survie moyen après tumorectomie des seuls animaux ayant une récidive tumorale est de 45 jours. Il est comparable à celui du groupe témoin.

C'est dans le troisième groupe qu'il y a le plus grand nombre de récidives tumorales : 7 récidives sur 15 animaux, soit 46,6 %. Le temps de survie moyen après tumorectomie est légèrement inférieur à celui du deuxième groupe : 72,1 jours. Par contre, le temps de survie moyen après tumorectomie des animaux ayant une récidive tumorale est plus important que celui du groupe témoin : 55,3 jours.

Il semble que les injections des extraits tumoraux n'ont pas d'effet immunothérapique. Au contraire, on peut penser qu'ils facilitent l'apparition des récidives tumorales.

Dans le quatrième groupe, le temps de survie moyen est identique à celui du deuxième groupe (84.5 jours), mais le temps de survie moyen des récidives tumorales n'est que de 39,4 jours. On note d'ailleurs 5 récidives tumorales sur 16 animaux, soit 31,2 %. Il semble donc que les injections de cellules S 724 irradiées n'ont ni effet immunothérapique, ni effet facilitant les récidives tumorales.

C'est dans le cinquième groupe que le nombre de récidives tumorales, après tumorectomie, est le plus faible : 3 sur 16 animaux, soit 18,7 %. Le temps de survie moyen est de 84,2 jours et le temps de survie moyen des récidives tumorales est de 40,6 jours.

Les injections de cellules xénogéniques CT 54 paraissent avoir l'effet immunothérapique le plus important.

En résumé, cette première expérience d'immunothérapie nous montre que la tumorectomie a eu un effet très important puisqu'un grand nombre d'animaux ont été guéris. Les injections de culot cellulaire semblent néfastes alors que les injections de cellules S 724 n'ont aucun effet.

Là encore les cellules xénogéniques (CT 54) semblent être le meilleur agent immunogène.

Deux remarques s'imposent. Le type de protocole expérimental qui était adapté dans notre ancien système expérimental hamster doré-CT 54 n'est pas très bon chez la souris AKR car la tumorectomie guérit trop d'animaux. La deuxième remarque est l'absence, dans notre expérience, du meilleur agent immunogène contre la tumeur S 724 : le virus polyome. Ces deux faits expliquent la suite de nos expériences. Nous avons tout d'abord voulu savoir si la protection se poursuivait par un effet antitumoral lorsque les injections virales étaient pratiquées après la charge tumorale. Ensuite, nous avons voulu nous servir du virus polyome comme agent immunothérapique.

D - INFLUENCE DU TEMPS DE LATENCE SUR LA REACTION DE REJET DE GREFFE PAR LE VIRUS POLYOME

Notre but a été d'essayer d'évaluer le temps minimum de latence nécessaire à la réaction de rejet de greffe dans notre système expérimental souris AKR-virus polyome.

Pour cela nous avons effectué deux expériences sur des souris AKR adultes de deux mois et demi environ. La charge tumorale est de $3{,}5 \times 10^6$ cellules tumorales S 724 au jour que nous appelons J. Les injections immunitaires de virus polyome (10^7 U.F.P.) sont faites avant, pendant et après cette charge tumorale. Entre les deux expériences la tumorigénicité de notre tumeur a évolué (phénomène que nous avons déjà signalé). Ce fait explique que nous avons employé dans la première expérience une dose virale égale à la dose protectrice 100 % et dans la deuxième expérience, plus tardive, égale à la dose protectrice 50 %.

La première expérience se compose de 6 séries de 5 souris AKR chacune. Chaque souris des cinq premières séries reçoit une seule injection de virus polyome. Ces injections ont lieu 5 jours avant la charge tumo-

rale, pendant la charge tumorale, puis 5, 10 et 15 jours après. Le dernier groupe est un groupe témoin, les animaux ne reçoivent que la charge tumorale. Nous appelons jour J le jour où l'on pratique les injections de cellules tumorales S 724.

La deuxième expérience se compose de 8 séries de 10 animaux. Par rapport à la première expérience, nous avons rajouté deux séries : une recevant l'injection virale immunisante 21 jours avant le jour J et l'autre 21 jours après.

Dans les deux expériences les différentes injections sont effectuées par voie sous-cutanée dorsale sous un volume de 0,5 ml. Après l'injection des cellules tumorales les animaux sont cliniquement examinés deux fois par semaine. On note le moment où les tumeurs apparaissent. Les animaux sont sacrifiés au bout de deux mois. Une vérification histologique de la tumeur éventuelle et des principaux organes est effectuée après chaque sacrifice ou après chaque décès survenu avant la fin de l'expérience.

Comme le montre le tableau n° 31 nous observons, au cours de la première expérience, une bonne protection au jour J-5. Quand le rapport cellules-virus est proche de la dose protectrice 100 % l'activité antitumorale est encore valable 15 jours après l'inoculation des cellules malignes. (Dans la quatrième série un animal est mort 7 jours après la charge tumorale et a été retiré de l'expérience.)

L'étude des inverses des temps d'apparition des tumeurs représentés par leur moyenne (multipliée par 1.000) sur le tableau n° 32 confirme la présence d'un effet antitumoral lorsque les injections immunitaires sont faites même 15 jours après la charge tumorale.

Ces différents résultats ont été analysés par Lepoint P. et Bourely P. selon la méthode statistique d'analyse des correspondances (méthode faisant l'objet de la thèse de Lepoint M.-P.).

Avec un $P = 0{,}15$ (15 % de chance de se tromper) le résultat des calculs et de la représentation graphique montre une différence très significative entre tous les groupes et le groupe témoin. La meilleure protection est obtenue pour les quatre premiers groupes de J—5 à J+10, et naturellement la protection à J+15 est moins bonne.

Pour ce type d'expérience les tests statistiques classiques ne peuvent pas être appliqués à cause du nombre d'animaux trop petit par série.

Au cours de la deuxième expérience, lorsque la dose protectrice n'est que de l'ordre de 50 %, l'activité antitumorale est moindre mais se prolonge jusqu'à J+15 (tableau n° 33). 21 jours après la charge tumorale, alors que les tumeurs commencent à être palpables, les injections de virus polyome ne modifient plus l'évolution de la tumeur.

Le tableau n° 34 montrant les moyennes des inverses des temps d'apparition des tumeurs confirme ce résultat.

Bien que le nombre d'animaux permette d'appliquer les tests statistiques habituels nous avons confié nos résultats à la méthode d'analyse des correspondances. Toujours avec un $P=0,15$ nous confirmons les résultats déjà décrits.

Cette méthode, qui a l'avantage de pouvoir être représentée graphiquement, permet d'apporter une certaine hiérarchie aux protections obtenues.

Les groupes 1 et 2 sont nettement les meilleurs quant à l'effet antitumoral. Le groupe 3 montre une protection à mi-chemin entre les témoins et les groupes 1 et 2. Ensuite trois groupes se comportent de la même manière (4, 5 et 6) en montrant un effet significativement différent du groupe témoin. Ce résultat permet ainsi de confirmer la présence d'un effet antitumoral à J+15, effet surtout observé lors de la première expérience.

Il n'y a naturellement pas de différence entre le groupe 7 et le groupe témoin.

En conclusion nous avons montré que la protection des souris AKR contre la charge tumorale de cellules S 724 par l'injection de virus polyome semble aussi bonne au jour J—21 qu'au jour J—5. Cette protection se poursuit par un effet antitumoral intéressant au moins 15 jours après le jour J. Ce résultat dépend certainement de la vitesse de croissance des cellules tumorales injectées. Dans notre système expérimental ce fait semble nous indiquer que les agents actifs dans des expériences de protection pourraient avoir une action dans des expériences d'immunothérapie en commençant le traitement dans les quinze premiers jours suivant la charge tumorale.

E - ESSAI D'IMMUNOTHERAPIE PAR LE VIRUS POLYOME DANS LE SYSTEME HAMSTER DORE-TUMEUR ST_{py}

Après avoir observé que le virus polyome était l'agent immunitaire responsable de la meilleure protection nous pensons qu'il est intéressant de l'utiliser dans une expérience d'immunothérapie proprement dite. Dans notre système expérimental souris AKR-tumeur S 724, nous avons montré que l'effet antitumoral du virus polyome se prolongeait au moins 15 jours après la charge tumorale.

En conséquence, nous avons pratiqué des injections de virus polyome de façon répétée, en commençant en même temps que la charge tumorale (jour J), 7 jours après et 14 jours après. Les tumeurs apparaissent en général entre 14 et 21 jours. Nous pensions poursuivre les injections jusqu'à un stade tumoral avancé ou jusqu'à ce que les animaux témoins soient décédés.

Cinq groupes de 10 hamsters dorés, adultes, ont reçu au jour J les injections de cellules tumorales.

Groupes	Nombre de tumeurs / Nombre d'animaux
J - 5	1/5
J	2/5
J + 5	2/5
J + 10	0/4
J + 15	1/5
Témoins	4/5

TABLEAU N° 31 : PREMIERE EXPERIENCE

Groupes	Moyennes
J - 5	4
J	19
J + 5	19
J + 10	0
J + 15	12,5
Témoins	50

TABLEAU N° 32 : PREMIERE EXPERIENCE
(moyennes des inverses des temps d'apparition des tumeurs X 1000)

Groupes	Nombre de tumeurs / Nombre d'animaux
J -21	5/10
J - 5	3/10
J	7/10
J + 5	7/8
J + 10	8/10
J +15	8/10
J + 21	10/10
Témoins	10/10

TABLEAU N° 33: DEUXIEME EXPERIENCE

Groupes	Moyennes
J - 21	32
J -5	19
J	65
J + 5	94
J + 10	94
J + 15	90
J + 21	132
Témoins	121

TABLEAU N° 34: DEUXIEME EXPERIENCE
(Moyennes des inverses des temps d'apparition des tumeurs x 1000)

Le premier groupe reçoit par voie sous-cutanée dorsale 5×10^3 cellules tumorales ST_{py} sous un volume de 0,5 ml. Quelques instants après ces animaux reçoivent par la même voie, sous un même volume, 10^6 U.F.P. de virus polyome. Ces injections virales immunisantes sont répétées aux jours J+7, J+14 et J+21

Le deuxième groupe reçoit la même charge tumorale, mais des injections virales seulement aux jours J+7, J+14 et J+21.

Le troisième groupe reçoit la même charge tumorale mais des injections de virus polyome seulement aux jours J+14 et J+21.

Le quatrième groupe est un groupe témoin qui ne reçoit que la charge tumorale, 5×10^3 cellules tumorales ST_{py}.

Le cinquième groupe est un deuxième groupe témoin qui reçoit une charge tumorale plus faible, 10^3 cellules ST_{py}. N'ayant pas pu calculer la DT 50 % de cette lignée cellulaire, ce dernier groupe nous permet d'apprécier la tumorigénicité.

Les animaux sont cliniquement examinés deux fois par semaine, des jours différents des injections. Lorsque les tumeurs apparaissent, les injections virales sont faites dans la tumeur.

A notre grand étonnement tous les animaux sont porteurs de tumeur. Les tumeurs sont apparues beaucoup plus rapidement chez les animaux traités que chez les animaux témoins (cf. tableau n° 35). Lorsque les injections de virus polyome sont commencées le jour de la charge tumorale on observe une facilitation plus importante que lorsqu'elles sont commencées plus tard. A partir du troisième groupe on n'observe pas d'effet des injections immunisantes sur le temps d'apparition des tumeurs, car, à partir du 14e jour, les tumeurs sont déjà apparues. On peut à ce propos remarquer qu'il est inutile de calculer les inverses des temps d'apparition des tumeurs car tous les animaux sont tumoraux.

Pour essayer d'apprécier un éventuel effet des injections virales sur la croissance tumorale, nous avons noté les temps séparant la charge tumorale du jour où la tumeur atteint une taille importante. Cette taille est fixée arbitrairement à celle d'une noix (environ trois centimètres de diamètre). Ces considérations sont naturellement très approximatives, cela d'autant plus que quelques animaux sont morts avant ce stade. Néanmoins le tableau n° 36 nous montre qu'il existe une facilitation pour les trois groupes traités par le virus polyome.

Nous n'avons pas soumis ces derniers résultats à l'analyse statistique car l'appréciation de la taille tumorale est trop approximative.

En utilisant l'analyse de variance, Bourely P. a montré une différence très significative en comparant aussi bien les trois premiers groupes au groupe témoin, que les deux premiers groupes au troisième groupe.

Le troisième groupe est naturellement identique, quant au temps d'apparition des tumeurs, au groupe témoin.

La comparaison entre le premier et le deuxième groupe ne montre qu'une différence à peine significative à la limite pour un $P=0,5$ (alors que les autres résultats étaient analysés avec un $P=0,01$). On peut donc admettre que les deux premiers groupes ont un comportement à peu près identique.

On peut ici remarquer que nous avons choisi pour chacune de nos expériences un test différent, soit très peu sélectif, presque grossier, comme l'analyse de variance, lorsque les résultats sont évidents, soit très fin, très sélectif, comme l'analyse des correspondances.

Ce fait souligne les difficultés que l'on rencontre souvent pour utiliser le test statistique le mieux adapté. Or ce problème du choix du test à utiliser est capital et ne peut être mené à bien qu'avec l'étroite collaboration du statisticien et de l'expérimentateur.

Nous avons pratiqué un certain nombre d'autopsies qui ont montré l'extrême fréquence des métastases, notamment pulmonaires. Nous n'avons pas remarqué de fréquence plus importante des métastases parmi les animaux traités par rapport aux animaux témoins. Cette localisation pulmonaire des métastases est néanmoins à remarquer ; ce fait est certainement le témoin d'une dissémination sanguine des cellules tumorales.

En résumé, les injections itératives de virus polyome après la charge tumorale ont entraîné une facilitation de la croissance de la tumeur ST_{py} chez le hamster doré.

Nous nous attendions à obtenir un effet antitumoral et c'est le résultat inverse que nous avons observé. Ce dernier type d'expérience que nous avons réalisé illustre bien le danger et l'aveuglement de l'immunothérapie. Le fait d'avoir changé de système expérimental a entraîné, malgré des méthodes identiques, des résultats opposés à ceux que nous avions obtenus chez la souris AKR. On peut regretter de ne pas avoir pu suivre dans nos différentes expériences l'état de l'immunité cellulaire et de l'immunité humorale de nos animaux.

La mise en œuvre des tests d'inhibition de colonie, de lymphocytotoxicité et de cytotoxicité permettra certainement de mettre en évidence, soit un déficit de l'immunité cellulaire, soit son blocage par des anticorps au cours des processus de facilitation.

La pratique de ces tests *in vitro* est capitale, non seulement pour l'expérimentation animale de l'immunothérapie, mais aussi pour les essais cliniques. A l'heure actuelle, cette voie semble la seule valable pour essayer de répertorier les agents immunogènes, pour essayer de séparer ceux qui sollicitent préférentiellement l'immunité cellulaire à l'immunité humorale néfaste pour l'hôte.

Premier groupe : Début des injections virales au jour J	8,6	TS
Deuxième groupe : Début des injections virales au jour J+7	11	TS
Troisième groupe : Début des injections virales au jour J+14	14	NS
Quatrième groupe : Témoins	14	
Cinquième groupe : Témoins 10^3 cellules	16,4	

TABLEAU N° 35 : Moyenne des temps d'apparition des tumeurs
(TS : très significatif)
(NS : non significatif)

TABLEAU N° 36 : Evolution des tumeurs

	JOURS	MOYENNES
Premier groupe : Début des injections virales au jour J	36 36 36 36 36 36 36	36
Deuxième groupe: Début des injections virales au jour J + 7	28 43 28 43 28 43 28 43 36	36,5
Troisième groupe: Début des injections virales au jour J + 14	36 43 36 43 43 43 43 43 43 50	42,2
Quatrième groupe: Témoins	43 50 43 50 43 50 43 54 43	46,5
Cinquième groupe: Témoins 10^3 cellules	43 50 43 50 50 50	47,6

F - DISCUSSION

L'ensemble de nos expériences nous a permi d'obtenir des résultats qui paraissent en accord avec ceux d'autres équipes de recherche.

L'importance du pouvoir protecteur du virus polyome est identique à celle qu'ont signalé la plupart des auteurs.

La possibilité de protéger le hamster doré contre la tumeur CT 54 par des cellules de souris portant le même T.A.T.A. peut être rapprochée de plusieurs faits déjà rapportés. Ainsi GIRARDI A.-J. (236) a déjà signalé la protection obtenue par des injections de cellules humaines transformées par le virus SV_{40}. Cette protection était observée chez des hamsters ayant reçu à la naissance des injections de ce même virus.

Cox H.R. et coll. (144) ont obtenu un meilleur effet antitumoral en rajoutant des cellules de souris aux injections de cellules tumorales irradiées de hamster. De même l'utilisation chez l'homme de « pools » de cellules leucémiques comme le préconise MATHÉ G. et coll. est comparable quant au principe. Il s'agit dans tous ces cas d'une augmentation de la réponse immunitaire de l'hôte par la présence d'antigènes supplémentaires apportés par le contingent cellulaire xénogénique ou allogénique.

Nos résultats, bien que moins convaincants, sont aussi comparables à ceux rapportés par HARRIS H. sur l'utilisation de cellules hybrides comme agents immunisants.

L'efficacité moindre des cellules en culture par rapport aux cellules tumorales fraîchement récupérées avait déjà été signalée par ELBER F.-R. et coll. (196). Nous avons déjà discuté la valeur de ce résultat dans notre première expérience. Il est probable que la culture de tissu pourra peut-être permettre d'utiliser ce type de traitement sur une grande échelle. Il faudra à ce moment-là tenir compte de la diminution du potentiel immunogène après passage en culture.

Dans la deuxième expérience, réalisée chez la souris AKR, nous retrouvons des résultats comparables. Bien que faible, l'effet protecteur des cellules irradiées est comparable à celui rapporté par les autres auteurs. Par contre, les extraits tumoraux acellulaires que nous avons utilisés sont moins protecteurs que ceux employés dans les expériences de MARTYRÉ M.-C. et HALLE-PANNENKO O. (300) ou OETTGEN H.-F. et coll. (579). Il faut d'ailleurs remarquer que ces auteurs n'ont pas exclu la possibilité de l'action d'un virus expliquant l'efficacité de leurs extraits.

L'expérience d'immunothérapie après ablation chirurgicale de la tumeur, chez la souris AKR, n'a pas apporté de faits nouveaux. Bien que l'efficacité de la tumorectomie rende l'interprétation difficile, il semble que les cellules xénogéniques se révèlent le meilleur traitement.

Dans notre quatrième série d'expériences, nous avons montré que la protection par le virus polyome se prolongeait par un effet antitumoral au moins quinze jours après la charge tumorale. Ce résultat, se rapportant à notre système expérimental souris AKR-tumeur S 724, peut être rapproché de celui de ELBER F.-R. et coll. (196) qui ont montré chez le cobaye un effet similaire 10 jours après les injections des cellules tumorales. Ces auteurs ont utilisé un liposarcome induit par le méthylcholanthrène. Nous avons déjà discuté le mécanisme de cet effet antitumoral qui dépend certainement de la vitesse de croissance de la tumeur et non pas directement de la nature de l'agent carcinogène inducteur (viral ou chimique).

Notre dernière expérience est assez surprenante quant à son résultat. Nous nous attendions à observer un effet antitumoral et nous avons obtenu une facilitation. GOLNER H. et coll. (243) ont rapporté un phénomène important de facilitation chez des hamsters ayant reçu des injections virales (SV_{40}) à la naissance. Cette facilitation était due au support des extraits tumoraux acellulaires utilisés. Nous ne pouvons pas affirmer que dans notre expérience le mécanisme ne soit pas identique puisque nous n'avons pas de groupe témoin n'ayant reçu que le liquide véhiculant habituellement le virus. Mais c'est la première fois que nous observons une telle facilitation, homogène, alors que nous n'avons pas changé le conditionnement.

Quoi qu'il en soit, il y a une différence entre les résultats obtenus avec le virus polyome et ceux obtenus avec les cellules xénogéniques qui apparaissent, chez l'animal, comme l'agent immunogène le plus efficace après le virus. Lorsque les injections virales sont protectrices, le résultat obtenu est très satisfaisant ; mais il arrive qu'il soit l'inverse de celui que l'on attendait et que la tumeur se développe chez les animaux essais plus vite que chez les témoins.

Par contre, avec les cellules xénogéniques, l'effet antitumoral est toujours moins important, mais les expériences paraissent plus reproductibles.

Ceci nous montre que l'isolement d'un virus oncogène humain n'entraînera pas obligatoirement son utilisation comme agent immunogène. Il faudra peut-être démontrer que le virus inactivé n'est pas facilitant.

De toute manière, nous ne possédons pas encore un tel virus et il semble logique d'utiliser chez l'homme les cellules xénogéniques. Pour cela il faudrait tout d'abord posséder un test *in vitro* capable de déceler le T.A.T.A. Ce test n'existe pas encore mais il semble que la présence d'un antigène de membrane mis en évidence par la technique d'immunofluorescence et l'induction du pouvoir cytotoxique à médiation cellulaire soient de bons témoins de la présence du T.A.T.A. Ensuite, il faudrait tester les sérums des malades cancéreux contre les tumeurs animales

dans l'espoir de trouver une tumeur portant le même T.A.T.A. que la tumeur du malade testé. Cette recherche, qui est peut-être utopique, demanderait un travail considérable.

Pour résoudre le problème, on peut essayer de rechercher ce type de réaction pour diverses tumeurs humaines et utiliser de façon croisée les cellules tumorales portant le même T.A.T.A. Il s'agirait alors de l'utilisation de cellules allogéniques.

Une autre solution peut être apportée par l'adjonction de cellules xénogéniques aux propres cellules du malade, voire la fabrication, toujours difficile, d'hybrides somatiques.

Il semble néanmoins que la solution la plus simple soit l'emploi de mélanges de cellules d'un même type de cancer comme l'utilisent déjà MATHÉ et coll. pour les leucémies aiguës. Si « le pool » est assez important, il est probable que les différents types de T.A.T.A. seront représentés. Nous avons déjà signalé que leur nombre n'était pas illimité pour les tumeurs chimio-induites et surtout que les antigènes sont spécifiques du virus dans les tumeurs viro-induites.

La réalisation expérimentale d'un principe thérapeutique théorique est toujours relativement facile car nous sommes capables d'utiliser les agents carcinogènes à notre guise. Par contre, l'application humaine reste délicate. L'immunothérapie active spécifique pourra bénéficier de la découverte de l'étiologie des cancers surtout s'il existe une relation entre un facteur oncogène précis et un aspect morphologique.

Mais déjà l'immunothérapie en général peut bénéficier des techniques de cytotoxicité *in vitro* permettant d'apprécier de façon séparée la réponse immunitaire à médiation humorale et la réponse immunitaire à médiation cellulaire. Ces tests permettront peut-être d'ajuster la thérapeutique aux réactions immunitaires de l'hôte.

CONCLUSIONS

L'étude de l'immunothérapie des cancers a entraîné une somme considérable de travaux, d'espoirs et de déceptions.

Continuant les essais expérimentaux déjà entrepris dans le service de recherche du Centre Régional Anti-Cancéreux de Marseille, nous avons essayé de faire le point sur ce sujet, sous la responsabilité du Professeur Henry Bonneau et du Docteur Georges Meyer. Pour cela, les données de la littérature ont été analysées et une série d'expérimentations personnelles a été mise en œuvre.

L'historique déjà est plein d'enseignements.

Dans la première moitié du xx^{e} siècle, de nombreuses méthodes d'immunothérapie ont été essayées. Après quelques très rares résultats heureux, toutes ont été pratiquement abandonnées.

Ensuite, commence l'ère des recherches scientifiques expérimentales d'immunologie tumorale. La démonstration de l'existence des antigènes tumoraux par Prehn donne une base objective aux traitements immunitaires du cancer. Les possibilités de protection antitumorale spécifique mises en évidence par Habel et Klein augmentent l'espoir d'une prévention ou d'une immunothérapie chez l'homme.

Parmi les différentes classes d'immunothérapie, passive, adoptive et active, soit non spécifique, soit spécifique, nous nous sommes intéressés à l'immunothérapie antitumorale active spécifique. Nous avons utilisé comme modèle expérimental la tumeur induite par le virus polyome chez la souris AKR et chez le hamster doré. Cette expérimentation a nécessité l'emploi de plus d'un millier de souris AKR et d'environ 300 hamsters dorés.

I. — Notre premier travail a été d'obtenir la tumeur de la souris AKR. Cette expérience nous a permis d'observer un certain antagonisme d'action entre deux virus oncogènes : le virus de Gross et le virus polyome.

Les vérifications histologiques, cytologiques et ultrastructurales de la tumeur choisie ont révélé sa nature salivaire myo-épithéliale, ce qui en fit un matériel d'étude original.

Les études immunologiques ont permis de retrouver les signes caractéristiques de l'induction tumorale par le virus polyome.

L'analyse cytogénétique des différentes tumeurs et des cultures tissulaires a entraîné l'observation d'un phénomène curieux : la formation d'isochromosomes. La réalisation probable d'un tel phénomène *in vitro* permet de penser qu'un virus associé pourrait en être responsable.

II. — Connaissant ainsi de façon précise notre matériel de travail, nous avons effectué plusieurs séries de traitements immunitaires.

Nos deux premiers groupes d'expériences, réalisés chez le hamster doré et chez la souris AKR, nous montrent que la protection obtenue par injection de virus polyome est toujours supérieure aux autres agents immunogènes : cellules xénogéniques, cellules allogéniques, cellules syngéniques irradiées ou extraits membranaires. Mais, indépendamment de son pouvoir oncogène, l'utilisation du virus peut être dangereuse par les possibilités de facilitation tumorale que l'on peut observer. Parmi les agents immunogènes moins actifs que le virus, les cellules xénogéniques se sont révélées les plus efficaces.

Pour travailler sur un modèle expérimental se rapprochant des cas rencontrés en clinique humaine, nous avons effectué des traitements immunitaires chez la souris AKR après ablation chirurgicale de la tumeur. L'effet antitumoral satisfaisant de la tumorectomie rappelle, si cela est nécessaire, l'efficacité de l'acte chirurgical. Bien que d'interprétation délicate, nos résultats nous ont montré que les injections de cellules xénogéniques paraissaient encore le traitement le plus utilisable.

III. — Dans nos deux dernières expériences, nous avons voulu centrer notre travail sur l'étude du virus polyome en tant qu'agent immunogène.

Nous avons d'abord montré les relations qui pouvaient exister, chez la souris AKR, entre les phénomènes de protection et d'immunothérapie proprement dite. En effectuant des injections virales avant, pendant et après la charge tumorale, l'effet protecteur antitumoral se prolonge au moins quinze jours après les injections des cellules malignes.

Ensuite, nous avons essayé, chez le hamster doré, des injections répétées de virus polyome après la charge tumorale. A notre grand étonnement nous avons observé une facilitation très homogène de la prolifération tumorale. Ce dernier résultat souligne l'aveuglement avec lequel nous pratiquons, pour l'instant, les différents essais de traitement immunitaire.

Nous terminerons en rappelant l'intérêt d'utiliser chez l'animal les cellules xénogéniques porteuses du même néo-antigène de transplantation que les cellules tumorales. Ce principe thérapeutique peut être utilisé dans le traitement des tumeurs solides humaines comme il l'est déjà dans le traitement des leucémies. Cependant, il faut que le thérapeute

fasse preuve de beaucoup de lucidité en connaissant les dangers de facilitation tumorale que son geste risque d'entraîner. Un progrès capital pourra être apporté par la surveillance *in vitro* de l'immunité à médiation humorale et de l'immunité à médiation cellulaire grâce aux différents tests de cytotoxicité. De nombreuses expériences restent encore à réaliser à la lumière de ces examens nouveaux permettant de conserver l'espoir de trouver une thérapeutique immunitaire rationnelle du cancer.

Lu et approuvé,

Le Président de Thèse,

Prof. X. SERAFINO.

Vu et approuvé,

Le Doyen,

Prof. H. ROUX.

BIBLIOGRAPHIE

1. Abdou (N.I.), Richter (M.). — « The role of bone marrow in the immune response ». *Advances in Immunology*, 1970, **12**, 202.

2. Abelev (G.I.). — « Antigenic structure of chemically induced hepatomas ». *Prog. Exp. Tumor Res.* Bâle, 1965, Karger ed., p. 104.

3. Abelev (G.I.). — « Production of embryonal serum alpha-globulin by hepatomas : review of experimental and clinical data ». *Cancer Research*, 1968, **28**, 1344.

4. Abelev (G.I.). — « Alpha-fetoprotein in ontogenesis and its association with malignant tumors ». *Advances in Cancer Resarch*, 1971, **45**, 295-358.

5. Abercrombie (M.), Ambrose (E.J.). — « The surface properties of cancer cells ». *Cancer Research*, 1962, **22**, 525.

6. Adida (J.), Amiel (J.L.), Brezin (C.), Matsukura (M.), Mery (A.M.), Seki-guchi (M.), Mathé (G.). — « Les antigènes de greffe étudiées chez la souris et chez l'homme ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.*, 1964, **9**, 1035.

7. Aisenberg (A.C.). — « Studies of delayed hypersensitivity in Hodgkin's disease ». *J. Clin. Invest.*, 1962, **41**, 1964.

8. Aisenberg (A.C.). — « Manifestations of immunologic unresponsiveness in Hodgkin's disease ». *Cancer Research*, 1966, **26**, 1152.

9. Aizawa (M.), Southam (C.M.). — « Serum antibodies following homotransplantation of human cancer cell ». *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1960, **87**, 293-307.

10. Alexander (P.), Delorme (E.F.), Hamilton (L.D.G.), Hall (J.G.). — « Effect of nucleic acids from immune lymphocytes on rat Sarcomata ». *Nature*, 1967, **213**, 569-572.

11. Alexander (P.). — « Immunotherapy of leukemia : the use of different classes of immune lymphocytes ». *Cancer Research*, 1967, **27**, 2521-2526.

12. Alexander (P.), Hamilton-Fairley (G.). — « Cellular resistance to tumours ». *Brit. Med. Bull.*, 1967, **23**, 86-92.

13. Alexander (P.). — « Immunotherapy of cancer ; experiments with primary tumours and syngenic tumour grafts ». *Progr. Exp. Tumor Res.*, 1968, **10**, 22-71.

14. Alexander (P.), Delorme (E.J.), Hamilton (L.D.), Hall (J.G.). — « In "Nucleic acids in immunology" ». New York, 1968, ed. Plescia O.J. et Braun W, Springer Verlag, p. 527.

15. Alexander (P.). — « Immunity and tolerance in oncogenesis ». 41th quadrennial Perugia Cancer Conf., 1969, 1065-71.

16. Ambrose (K.R.), Anderson (N.G.), Coggin (J.H.). — « Cytostatic antibody and SV 40 tumour immunity in hamsters ». *Nature* 1971, **233**, 321-324.

17. Amiel (J.L.), Mery (A.M.), Mathé (G.). — « Les réponses immunitaires chez des patientes atteintes de chorio-carcinome placentaire. Corrélation entre ces réponses et l'évolution de la maladie ». Colloque "Immunosuppression hématologique" (Liège), 1967.

18. Amiel (J.L.), Sekiguchi (M.), Daguet (G.), Garattini (S.), Palma (V.). — « Etude de l'effet immunodépresseur des composés chimiques utilisés en chimiothérapie anticancéreuse ». *Eur. J. Cancer.*, 1967, **3**, 47-65.

19. Amiel (J.L.). — « Immunothérapie active non spécifique par le B.C.G. de la leucémie virale E mâle G 2 chez des receveurs isogéniques ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1967, **12**, 912-914.

20. Amiel (J.L.). — « Perspectives de l'immunothérapie des cancers ». *Revue du Praticien* 1968, **18**, 1273-1283.

21. Amiel (J.L.), Litwin (J.), Berardet (M.). — « Essais d'immunothérapie active non spécifique par Corynebacterium parvum formolé ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1969, **14**, 909-912.

22. Amiel (J.L.), Berardet (M.). — « Essai de traitement de la leucémie E mâle G 2 associant chimiothérapie et immunothérapies actives non spécifiques et spécifiques ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1969, **14**, 685-688.

23. Amiel (J.L.), Berardet (M.). — « Induction d'une insuffisance immunitaire chez la souris adulte par l'utilisation additive d'un stimulus non spécifique des réactions immunitaires et d'une chimiothérapie immunodépressive ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1969, **14**, 912-915.

24. Andersen (V.), Bendixen (G.), Schiodt (T.). — « An "in vitro" demonstration of cellular immunity against autologous mammary carcinoma in man ». *Acta. Med. Scand.* 1969, **126**, 101-103.

25. Anderson (M.R.), Green (H.N.). — « Tumor host relationship ». *Brit. J. Cancer* 1967, **21**, 27-32.

26. Andrevont (H.B.). — « Specificity of immunity elicited by mouse sarcoma 180 ». *Public Health Rep.* 1933, **49**, 1472.

27. Andrews (G.A.), Congdon (C.C.), Edwards (C.L.), Gengozian (N.), Nelson (L.), Vodopick (H.). — « Preliminary immunotherapy ». *Cancer Research* 1967, **27**, 2535-2541.

28. Anigstein (L.), Pomerat (C.M.). — « Reticuloendothelial immune serum (REIS). Experimental production of Anemia and Bartonellosio in rats by inhibitory doses ». *Tex. Rep. Biol. Med.* 1945, **3**, 545-557.

29. Aoki (T.), Old (L.J.), Boyse (E.A.). — « Serological analysis of leukemia antigens of the mouse ». *Nat. Cancer Inst. Monogr.* 1966, **22**, 449.

30. Aoki (T.), Boyse (E.A.), Old (L.J.). — « Occurence of natural antibody to the G (Gross) leukemia antigen in mice ». *Cancer Research* 1966, **26**, 1415.

31. Aoki (T.), Boyse (E.A.), Old (L.J.). — « Wild-type Gross leukemia virus. I. : soluble antigen (G.S.A.) in the plasma and tissues of infected mice ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1968, **41**, 89.

32. Archer (O.K.), Sutherland (D.E.R.), Good (R.A.). — « The developmental biology of lymphoid tissue in the rabbit. Consideration of the role of thymus and appendix ». *Lab. Invest.* 1964, **13**, 259.

33. Arpels (C.), Southam (C.M.). — « Cytotoxicity of sera from healthy persons and cancer patients ». *Int. J. Cancer* 1969, **4**, 548-557.

34. Askonas (B.A.), Rhodes (J.M.). — « Immunogenicity of antigen containing ribonucleic acid preparation from macrophage ». *Nature* 1965, **205**, 470.

35. Baldwin (R.W.). — « Immunity to methylcholanthrene-induced tumours in inbred rats following atrophy and repression of the inplanted tumours ». *Brit. J. Cancer* 1955, **9**, 652.

36. Baldwin (R.W.). — « Modification of cell antigens during aminoazo-dye carcinogenesis in rat liver ». *Brit. J. Cancer* 1964, **18**, 285.

37. Baldwin (R.W.), Barker (C.R.). — « Tumour-specific antigenicity of aminoazo-dye induced rat hepatomas ». *Int. J. Cancer* 1967, **2**, 355.

38. Baldwin (R.W.), Barker (C.R.). — « Demonstration of tumour-specific humoral antibody against aminoazo-dye induced rat hepatoma ». *J. Cancer* 1967, **21**, 793.

39. Baldwin (R.W.), Glaves (D.). — « Immunodepressive action of carcinogenic aminoazo-dyes ». *Ann. Rep. Brit. Emp. Cancer Compaign.* 1968, **46**, 236.

40. Baldwin (R.W.), Embleton (M.J.). — « Immunology of 2 acetylaminofluorene induced rat mammary adeno-carcinomas ». *Int. J. Cancer* 1969, **4**, 47.

41. Baldwin (R.W.), Embleton (M.J.). — « Immunology of spontaneously arising rat mammary adenocarcinomas ». *Int. J. Cancer* 1969, **4**, 430.

42. Baldwin (R.W.), Moore (M.). — « Isolation of membrane associated tumour specific antigen from an aminoazo-dye induced rat hepatoma ». *Int. J. Cancer* 1969, **4**, 753.

43. Baldwin (R.W.), Embleton (M.J.). — « "In vitro" demonstration of cellular and humoral immunity against tumour specific antigens on an aminoazo-dye-induced rat hepatoma ». *Ann. Rep. Brit. Emp. Cancer Compaign.* 1969,

44. Baldwin (R.W.). — « Tumour specific antigens associated with chemically induced tumours ». *Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol.* 1970, **15**, 593-598.

45. Baldwin (R.W.), Barker (C.R.), Embleton (M.J.), Moore (M.). — « Immunology of carcinogen-induced rat hepatomas and mammary adenocarcinomas ». In : "Immunity and tolerance in oncogenesis", 1970.

46. Baldwin (R.W.), Glaves (D.), Pimm (M.V.), Price (M.R.). — « Characterisation of membrane associated tumour specific antigens ». Fourth International Symposium on the Biological Characterisation of Human Tumours. Heidelberg, 1971.

47. Balner (H.). — « Immunosuppression and neoplasia ». *Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol.* 1970, **15**, 599-604.

48. Balner (H.), Old (L.S.), Clarke (D.A.). — « Accelerated rejection of male skin isografts by female C 57 B/6 mice injected with bacilles Calmette-Guérin (B.C.G.). ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1962, **109**, 58.

49. Bansal (S.C.), Sjogren (H.O.). —« "Unblocking" serum activity in vitro in the polyoma system may correlate with antitumour effects of antiserum in vivo ». *Nature New Biology* 1971, **233**, 76-78.

50. Barchilon (J.), Gershon (R.K.). — « Synergism between thymocytes and bone marrow cells in a graft versus host reaction ». *Nature* 1970, **227,** 71-72.

51. Barnes (D.W.H.), Loutit (J.F.). — « Treatment of murine leukaemia with X rays and homologous bone marrow ». *Brit. J. Haematol.* 1957, **3,** 241-252.

52. Barski (G.), Chlap (Z.B.), Gotlieb-Stemasky (T.), Charlier (M.K.). — « Tumeurs malignes et maladie hémorragique chez les hamsters adultes inoculés avec le virus du polyoma ». *Bull. Cancer* 1961, **48,** 317-330.

53. Barski (G.), Youn (J.K.). — « Evolution of cell mediate immunity in mice bearing an antigenic tumor. Influence of tumor growth and surgical removal ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1969, **43,** 111-122.

54. Barth (R.E.), Epsmark (J.A.), Fagraeus (A.). — « Histocompatibility and tumor virus antigens identified on cells grown in tissue culture by means of the mixed haemadsorption reaction ». *J. Immunol.* 1967, **98,** 883-893.

55. Basilico (C.), Di Mayorca (G.). — « Radiation target size of the lytic and the transforming ability of polyoma virus ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1965, **54,** 125-127.

56. Berkeley (W.N.). — « Results of three year's observation on a new form of cancer treatment ». *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 1964, **69,** 1060-1063.

57. Bernard (J.), Mathé (G.), Weill (M.), Sautier (C.). — « I metodi moderni di tratamento delle leucemie acute ». *Recenti Progr. Med.* 1956, **21,** 93-98.

58. Bernard (J.). — « La tumeur de Burkitt en 1966 ». *Nouv. Rev. Fr. Hématol.* 1966, **6,** 183.

59. Bernard (J.), Binet (J.L.). — « Lymphe et circulation des lymphocytes chez l'homme ». *Nouv. Rev. Fr. Hématol.* 1966, **6,** 585.

60. Bernard (J.). — « Traitement des leucémies aiguës de l'enfant ». *Revue du Praticien* 1969, **19,** 3915-3923.

61. Bernhardt (W.), Guérin (M.). — « Présence de particules d'aspect virusal dans les tissus tumoraux de souris atteintes de leucémie spontanée ». *C.R. Acad. Sci.* 1958, **247,** 1802-1805.

62. Bernhardt (W.), Gross (L.). — « Présence de particules d'aspect virusal dans les tissus tumoraux de souris atteintes de leucémies induites ». *C.R. Acad. Sci.* 1959, **248,** 160-163.

63. Bernhardt (W.), Febure (V.), Gamer (R.). — « Mise en évidence en microscopie électronique d'un virus dans les cellules infectées "in vitro" par l'agent du Polyome ». *C.R. Acad. Sci.* 1959, **249,** 483-485.

64. Bernstein (I.), Wright (P.W.). — « In vitro detection of enhancing antibody by the macrophage migration test ». *Nature New biology* 1971, **231,** 25-26.

65. Berton (H.S.), Chambers (D.C.), Querry (M.V.). — « On the production of blocking antibody for experimental therapy in ragweed pollenosis ». *Excerpta Medica.* International congress series 1961, **42,** 111-112.

66. Bertrand (L.). — Annal. de la Soc. de Méd. d'Anvers, 1909.

67. Berwald (Y.), Sachs (L.). — « "In vitro" transformation of normal cells to tumor cells by carcinogenic hydrocarbons ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1965, **35,** 641.

68. Besson (J.), Warney (M.), Feliciano (J.M.), Levraud (J.), Sanchez (F.) — « Etude comparative de la sensibilité cutanée à diverses tuberculines ». *Rev. Tuberc. Pneumol.* (Paris) 1968, **32**, 409-420.

69. Betti (O.). — « Contributo alla terapia istogena dei tumori maligni ». *Tumori* 1911, **1**, 450-454.

70. Bichel (J.), Holm-Jensen (I.). — « Parabiosis and resistance to transplantation. II. : Studies on the resistance to transmissible leukemia in mice by means of heterogenetic and homogenetic parabiosis ». *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 1949, **26**, 319.

71. Billingham (R.E.), Brent (L.), Medawar (P.B.). — « Quantitative studies on tissue transplantation immunity. II. : The origin, strength, and duration of actively and adoptively acquired immunity ». *Proc. Roy. Soc. London S.E.R.* 1954, **143**, 58-80.

72. Billingham (R.E.). — *New Eng. J. Med.* 1964, **270**, 667-672.

73. Binet (J.L.), Bernard (J.). — « Circulation des lymphocytes ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1969, **14**, 235-237.

74. Biozzi (G.), Stiffel (C.), Halpern (B.), Mouton (D.). — « Effet de l'inoculation du bacille de Calmette et Guérin sur le développement de la tumeur ascitique d'Ehrlich chez la souris ». *C.R. Soc. Biol.* 1953, **153**, 987.

75. Biozzi (G.), Stiffel (C.), Mouton (D.), Bouthillier (Y.), Decreusefond (C). — « A kinetic study of antibody producting cells in the spleen of mice immunized with sheep erythrocytes ». *Immunology* 1968, **14**, 7.

76. Biozzi (G.). — « Les adjuvants de l'immunité ». C.E.B.H. de cancérologie expérimentale (Prof. G. Mathé), 1968, 6 décembre.

77. Bjorklund (B.), Lunblad (G.), Bjorklund (V.). — *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 1958, **12**, 241-261.

78. Blumenthal (F.), Jacobs (E.), Rosenberg (H.). — « Zur Behandlung der Krebskrankheit : eine multivalente Hormontherapie ». *Schweiz. Med. Wochenschr.* 1936, **66**, 640.

79. Boeva (M.), Gorodilova (V.), Saraeva (Z.). — « Immunological studies on the malignant melanoma in hamsters and man ». Fourth International Symposium on the Biological Characterisation of Human Tumours. Heidelberg, 1971.

80. Bogomolets (A.A.). — « Sur la stimulation cytotoxique des fonctions du système physiologique du tissu conjonctif et son rôle dans la lutte du cancer ». *Acta. Med. U.R.S.S.* 1939, **2**, 65-73.

81. Bogomolets (A.A.). — « Anti-reticular cytotoxic serum as a means of pathogenetic therapy ». *Am. Rev. Soviet. Med.* 1943, **1**, 101-112.

82. Bohuon (C.), Comoy (E.). — « Acquisitions récentes sur la caractérisation biochimique des tumeurs humaines sécrétantes ». *J. Biol. Clin.* 1967.

83. Bolande (R.P.), Todd (E.W.). — « The cytotoxic action of normal human serum on certain human cells propagated in vitro ». *Arch. Pathol.* 1958, **66**, 720-732.

84. Bonneau (H.), Meyer (G.), Lherisson (A.M.), Cesarini (J.P.). — « Etude quantitative de l'antigène de transplantation dans le système virus polyome-hamster (modifications par les radiations ultra-violettes) ». Proceedings of the first International Congress of the Transplantation Society, Advances in Transplantation 1967, 499-501.

85. Bonneau (H.), Cesarini (J.P.), Lherisson (A.M.), Berebbi (M.), Varette (I.). « Structure et ultrastructure comparative des tumeurs induites primitivement par le virus polyome chez le hamster doré et entretenues par transplantation ». *C.R. Soc. Biol.* 1967, **161,** 380.

86. Bonneau (H.), Cesarini (J.P.). — « Mise en évidence en Microscopie Electronique des glycoprotéines de surface sur des cellules transformées par le virus du polyome et de Rous ». The fourth European Regional Conference on Electron Microscopy, Rome, 1968, 577-578.

87. Bonneau (H.), Cochet (G.), Favre (R.), Meyer (G.). — « Essai d'un traitement immunitaire par extraits tumoraux irradiés aux rayons U.V. des tumeurs de hamster à virus polyome ». *Bull. Cancer* 1970, **57,** 55-68.

88. Bonneau (H.), Peyronel (J.C.), Favre (R.), Robert-Vague (D.). — « Essais de traitement auxiliaire de certains cancers humains par injection d'extraits tumoraux autologues irradiés aux rayons ultra-violets ». *Bull. Cancer* 1970, **57,** 69-78.

89. Bonneau (H.). — (Résultat non publié).

90. Bonneau (H.P.). — « Pathologie d'une tumeur salivaire transplantable viro-induite chez la souris AKR (apport à l'étude des tumeurs myoépithéliales) ». Mémoire présenté pour l'obtention du certificat d'études spéciales d'anatomie pathologique, Marseille 1971, Faculté de Médecine de Marseille.

91. Boone (C.), Blackmann (K.), Brandchaft (P.). — « Tumour immunity induced in mice with cell-free homogenates of influenza virus-infected tumour cells ». *Nature,* 1971, **231,** 265-266.

92. Borrel (A.). — « Epithélioses infectieuses et épithéliomas ». *Ann. Inst. Pasteur* 1903, **17,** 81-118.

93. Boutin (C.). — « Les désensibilisations retards ». *Bulletin Soc. Sciences Médicales de la Moselle.* 1971.

94. Boyse (E.A.), Old (L.J.), Luell (S.). — « Genetic determination of the T.L. antigen in mouse ». *Nature* 1964, **201,** 779.

95. Boyse (E.A.), Old (L.J.), Stockert (E.), Shigeno (N.). — « Genetic origin of tumor antigens ». *Cancer Research* 1968, **28,** 1280-1287.

96. Bradner (W.T.), Clarke (D.A.). — « Stimulation of host defense against experimental cancer. II. : Temporal and reversal studies of the Zymosan effect ». *Cancer Research* 1959, **19,** 673-679.

97. Braun (W.), Nakano (M.), Jaraskova (L.), Yasima (Y.), Jimenez (L.). — « Stimulation of antibody forming cells by oligonucleotides of known composition ». In "Nucleic acids in immunology". New York, 1968, ed. Plescia O.J. and Braun W., Springer Verlag, p. 347.

98. Braunstein (A.). — « Uber immunbiologische Krebsprophylaxe und konstitutionnelle Krebsdisposition ». *Zeitschrift für Krebsforschung* 1933, **39,** 321-357.

99. Brittingham (T.E.), Chaplin (H.). — « Production of a Human "Antileukemic leukocyte" serum and its therapeutic trial ». *Cancer* 1960, **13**, 412-418.

100. Bubenick (J.), Perlmann (P.), Helmstein (K.) et Moberger (G.). — « Immune response to urinary bladder tumours in man ». *Int. J. Cancer* 1970, **5**, 39.46.

101. Buinauskas (P.), Mac Credie (J.A.), Brown (E.R.), Cole (W.H.). — « Experimental treatment of tumors with antibodies ». *Arch. Surg.* 1959, **79**, 432.

102. Burdick (K.H.), Hawk (W.A.). — « Vitiligo in a case of vaccina virus treated melanoma ». *Cancer* 1964, **17**, 708-713.

103. Burkitt (D.), Wright (D.H.). — « A lymphoma syndrome in tropical Africa ». "International Review of Experimental Pathology". 1963, **2**, 67.

104. Burkitt (D.), Hutt (M.S.R.), Wright (D.H.). — « The African lymphoma ». *Cancer* 1965, **18**, 399-410.

105. Burkitt (D.), Wright (D.H.). — « Geographical and tribal distribution of the African Lymphoma in Uganda ». *Brit. Med. J.* 1966, **1**, 45-130.

106. Burkitt (D.). — « Clinical evidence suggesting the development of an immunological response against African lymphoma ». *U.I.C.C. Monographs* 1967, **8**, 197-203.

107. Burkitt (D.), Hutt (M.S.R.), Slavin (O.). — « Clinico-pathological studies of cancer distribution in Africa ». *Brit. J. Cancer* 1968, **22**, 1.

108. Burmester (B.R.). — « "In vitro" and "in vivo" neutralization of the virus of viscera lymphomatosis ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1955, **90**, 284.

109. Burnet (F.M.). — « Immunological factors in the process of carcinogenesis ». *Brit. Med. Bull.* 1964, **20**, 154.

110. Burnet (F.M.). — Immunological aspects of malignant disease ». *Lancet* 1967, **1**, 1171-1174.

111. Burstein (N.A.). — « Immunity to murine sarcoma virus (MSV) induced tumors demonstrated by "in vivo" elimination of 51 chromium labeled tumor cells ». *Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol.* 1970, **15**, 873-874.

112. Burtin (P.), Von Kleist (S.), Rapp (W.), Loisillier (F.), Bonatti (A.), Grabar (P.). — « Auto-anticorps chez les cancéreux ». *Presse médicale* 1965, **73**, 2599-2603.

113. Burtin (P.). — « Les protéines spécifiques des cancers humains ». *Nouv. Rev. Fr. Hématol.* 1970, **10**, 335-338.

114. Camain (R.), Lambert (D.). — « Les hématosarcomes de la face chez l'enfant en Afrique (maladie de Burkitt) ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1965, **10**, 587.

115. Carvalho (S. de). — « Preliminary experimentation with specific immunotherapy of neoplastic disease in man. I. : immediate effects of hyperimmune equine gammaglobulins ». *Cancer* 1963, **16**, 306-330.

116. Cassel (W.A.), Garret (R.E.). — « Relationship between viral neurotropism and oncolysis ». *Cancer* 1967, **20**, 433-445.

117. Cazal (P.). — « Le Thymus ». Conférence dans le cadre du C.E.S. d'Hématologie cytologique, Montpellier, 11 mai 1971.

118. Ceglowski (W.S.), Friedman (H.). — « Immunosuppressive effects of Friend and Rauscher leukemia disease viruses on cellular and humoral antibody formation ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1968, **40**, 983.

119. Cerottini (J.C.), Nordin (A.A.), Brunner (K.T.). — « In vitro cytotoxic activity of thymus cells sensitized to allo-antigens ». *Nature* 1970, **227**, 72-73.

120. Césarini (J.P.), Bonneau (H.). — « Mise en évidence par la technique de Rambourg des glycoprotéines d'une souche transformée par le virus polyome : les aspects de la différenciation cellulaire ». *C.R. Soc. Biol.* 1968, **162**, 2168.

121. Chany (S.S.), Hildemann (W.H.), Rasmussen (A.F.). — « Immunogenetic aspects of polyoma suceptibility in mice ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1968, **40**, 363-375.

122. Chauvergne (J.), Hoerni (B.), Touchard (J.) et Simon (G.). — « Leucémie lymphoïde chronique ». *Bordeaux médical* 1970, **3**, 58.

123. Chu (E.H.Y.), Stjernsward (J.), Clifford (P.), Klein (G.). — « Reactivity of human lymphocytes against autochtonous and allogenic normal and tumour cells in vitro ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1967, **39**, 595-612.

124. Chuat (J.C.). — « L'immunologie des tumeurs expérimentales provoquées par les virus Adn des mammifères ». *Pathol. Biol.* 1967, **15**, 687.

125. Cinader (B.), Haley (M.A.), Rider (W.D.) et Warwick (H.). — « Immunotherapy of a patient with choriocarcinoma ». *Canad. Med. Ass. J.* 1961, **84**, 306-309.

126. Claman (H.N.), Chaperon (E.A.), Triplett (R.F.). — « Thymus marrow cell combinations. Synergism in antibody production ». *Proc. Soc. Exp. Biol Med.* 1966, **122**, 1167.

127. Claman (H.N.), Chaperon (E.A.). — « Immunologic complementation between thymus and marrow cells : a model for two cell theory of immunocompetence ». *Transplantation Rev.* 1969, **1**, 92.

128. Clarke (J.A.), Salsbury (A.J.), Willoughby (D.A.). — « Application of electron probe micro analysis and electron microscopy to the transfer of antigenic material ». *Nature* 1970, **227**, 69-71.

129. Clifford (P.). — « Further studies in the treatment of Burkitt's lymphoma ». *East African Med. J.* 1966, **43**, 179-189.

130. Cline (M.J.), Livingston (D.C.). — « Concanavalin A : role in agglutinating transformed cells ». *Nature New Biology* 1971, **232**, 155-156.

131. Coca (A.F.), Dorrange (G.M.), Lebredo (M.G.). — « "Vaccination" in Cancer II A report on the results of the vaccination therapy as applied in 79 cases of human cancer ». *Zeitschr. Immünitätsforsch.* 1912, **13**, 543-85.

132. Cochran (A.), Diehl (V.), Stjernsward (J.). — « Regression of primary malignant melanoma associated with a good prognosis despite metastasis to lymph nodes ». *Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol.* 1970, **15**, 969-972.

133. Coggin (J.H.), Larson (V.M.), Hilleman (M.R.). — « Prevention of SV 40 virus tumorigenesis by irradiated, disrupted and iododeoxyuridine-treated tumor cell antigens (31 851) ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1967, **124**, 774-784.

134. Coggin (J.H.), Larson (J.M.), Hilleman (M.R.). — « Immunologic responses in hamsters to homologous tumour antigens measured in vivo and in vitro ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1967, **124**, 1295-1302.

135. Coggin (J.H.), Ambrose (K.R.), Anderson (N.G.). — « Fetal antigen capable of inducing transplantation immunity against SV 40 hamster tumor cells ». *J. Immunol.* 1970, **105**, 524-526.

136. Cohn (L.), Uhr (J.W.). — « Immunological deficiency disorders associated with chronic lymphocytic leukemia and multiple myeloma ». *J. Clin. Invest.* 1964, **43**, 2241.

137. Coons (A.H.), Kaplan (M.H.). — « Localization of antigen in tissue cells : improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody ». *J. Exp. Med.* 1950, **91**, 1-13.

138. Cooper (M.D.), Peterson (R.D.A.), South (M.A.), Good (R.A.). — « The functions of the thymus system and the bursa system in the chicken ». *J. Exp. Med.* 1966, **123**, 75.

139. Cooper (M.D.), Perey (D.Y.E.), Gabrielsen (A.E.), Sutherland (D.E.R.), Mackneally (M.F.), Good (R.A.). — « Production of an antibody defiency syndrome in rabbits by neonatal removal of organized intestinal lymphoid tissues ». *Int. Arch. Allergy.* 1968, **33**, 65.

140. Cooper (M.D.), Cain (W.A.), Van Alten (P.), Good (R.A.). — « Development and function of the immunoglobulin producing system. I. : effect of bursectomy at different stages of development on germinal centers, plasma cells, immunoglobulins and antibody production ». *Int. Arch. Allergy.* 1969, **35**, 242.

141. Corragio (F.), Coto (V.), Fantoni (V.), Galeota (C.A.), Lavegas (E.). — « Azione di un interferon, proveniente da culture "in vitro" di cellule embrionali di topo infetato col virus del polioma su un tumor tranpiantabile nel topo ». *Boll. Ist. Sieroter, Milanese* 1955, **44**, 3.

142. Correspondant of Nature. — « Clinical immunology : lack of response ». *Nature New Biology* 1971, **231**, 3.

143. Corson (H.R.), Mann (L.T.), Damin (G.J.). — « Studies of the sensibilization in mice induced by cellular fractions containing H 2 antigens ». *J. Immunol.* 1967, **99**, 1078.

144. Cox (H.R.), Nozell (H.S.), Wallace (R.E.) and Moyer (A.W.). — « Immunological studies with simian virus 40 (SV 40) tumors in hamsters. Effect of xenogeneic cells in allogeneic transplantation immunity ». *J. Med.* 1970, **1**, 26-42.

145. Crawford (L.V.). — « The adsorption of polyoma virus ». *Virology* 1962, **18**, 177-181.

146. Cremer (M.E.). — Selective immunoglobulin deficiencies in rats infected with Moloney virus ». *J. Immunol.* 1967, **99**, 71.

147. Cunningham (T.J.), Olson (K.B.), Laffin (R.), Horton (J.) et Sullivan (J.). — « Treatment of advanced cancer with active immunization ». *Cancer*, 1969, **24**, 932-937.

148. Currie (G.A.), Bagshave (K.D.). — « The masking of antigens on trophoblast and cancer cells ». *Lancet* 1967, **1**, 708-710.

149. Currie (G.A.), Bagshave (K.D.). — « Tumour specific immunogenecity of methylcholanthrene induced sarcoma cells after incubation in neuraminidase ». *Brit. J. Cancer* 1969, **23**, 141.

150. Czajkowski (N.P.), Rosenblatt (M.), Wolf (P.L.), Vazquez (J.). — « A new method of active immunization to autologous human tumour tissue ». *Lancet* 1967, **28**, 905-909.

151. Dar (L.). — « Premiers essais de cytolyse des cancers ». *Gazette hebdomadaire de médecine et de chirurgie* 1901, **6**, 73-74.

152. Dargent (M.). — « Pratique cancérologique ». Paris, 1971, Ed. Expansion.

153. Datta (S.K.), Vandeputte (M.). — « Studies on cellular and humoral immunity to tumor specific antigens in polyoma virus-induced tumors of rats ». *Cancer Research* 1971, **31**, 882-889.

154. Davies (D.A.L.). — « Mouse histocompatibility iso-antigens derived from normal and from tumor cells ». *Immunology* 1966, **11**, 115.

155. Davies (D.A.L.), Leuchards (E.), Wallis (V.), Marchant (R.), Elliott (E.V.). « The failure of thymus derived cells to produce antibody ». *Transplantation* 1967, **5**, 222.

156. Davies (D.A.L.), Alkins (B.J.), Boyse (E.A.), Old (L.J.), Stockert (E.). — « Soluble T.L. negative mouse strain ». *Immunology* 1969, **16**, 669.

157. Davis (W.D.). — « Clinical observations in patients treated with antireticular cytotoxic serum : preliminary report ». *Amer. J. Med.* 1957, **3**, 123.

158. Dawe (C.J.), Law (L.W.), Dunn (T.B.). — « Studies of parotid agent in culture of leukemic tissues of mice ». *J. Nat. Canc. Inst.* 1959, **23**, 717-797.

159. Dawe (C.J.). — « Skin-appendage tumors induced by polyoma virus in mice ». *J. Nat. Cancer Inst.* (Monograph.) 1963, **10**, 459-488.

160. Deckers (C.). — « Contribution à l'étude de la structure antigénique de tumeurs expérimentales ». Thèse Bruxelles 1964, Ed. Arscia S.A.

161. Deckers (K.P.), Pilch (Y.H.). — *Surgery Forum* 1970, **21**, 124.

162. Deckers (P.J.), Pilch (Y.H.). — « Transfer of immunity to tumour isografts by the systemic administration of xenogenic immune Rna ». *Nature New Biology* 1971, **231**, 181-183.

163. Deckers (P.J.), Edgerton (B.W.), Thomas (B.S.), Pilch (Y.H.). — « The adoptive transfer of concomitant immunity to murine tumor isograft with spleen cells from tumor bearing animals ». *Cancer Research* 1971, **31**, 734-742.

164. Defendi (V.), Gasic (G.). — « Surface mucopolysaccharides of polyoma-virus transformed cells ». *J. Cell. Comp. Physiol.* 1963, **62**, 23-32.

165. Defendi (V.). — « Immunological studies with polyoma-induced tumors in hamsters ». *Acta virologica* 1963, **7**, 254-259.

166. Defendi (V.). — « Effect of SV 40 virus immunization on growth of transplantable SV 40 and polyoma virus tumors in hamsters ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1963, **113**, 12-16.

167. Defendi (V.), Lehman (T.H.). — « Transformation of hamster embryo cells in vitro by polyoma virus : morphological, karyological, immunological and transplantation characteristics ». *J. Cell. Comp. Physiol.* 1965, **66**, 351-410.

168. Defendi (V.), Taguchi (F.). — « Studies with the complement fixing antigen induced by polyoma virus ». *Ann. Med. Exp. Biol. Fenn.* 1966, **44**, 232-241.

169. Defendi (V.), Jensen (F.). — « Oncogenicity by Dna tumor viruses : enhancement after U.V. and Co 60 radiations ». *Science* 1967, **157**, 703-705.

170. Defendi (V.), Ephrussi (B.), Koprowski (H.), Yoshida (M.D.). — « Properties of hybrids between polyoma transformed and normal mouse cells ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1967, **57**, 299-305.

171. Deichman (G.I.), Kluchareva (T.E.). — « Immunological determinants of oncogenesis in hamsters infected with SV 40 virus ». *Virology* 1964, **24**, 131-137.

172. Denoix (P.). — « Importance des relations hôte-tumeur et de l'état hormonal sur l'évolution et le pronostic de la maladie cancéreuse ». Abstracts VIIth International Cancer Congress (Moscou), 1962, **28.**

173. Denoix (P.). — « Le traitement des tumeurs en fonction de nos connaissances concernant le rôle de l'hôte ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1965, **10**, 583-586.

174. Denoix (P.) et l'Institut Gustave-Roussy. — « La maladie cancéreuse ». Paris, 1968, J.-B. Baillère et Fils, éd.

175. Dent (P.B.), Peterson (R.D.A.), Good (R.A.A.). — « Defect in cellular immunity during the incubation period of passage A leukemia in C3H mice ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1965, **119**, 869.

176. De Odhar (S.D.). — « Enhancement of metastases by L. asparaginase in a mouse tumour system ». *Nature* 1971, **231**, 319-321.

177. De Vita (V.), Canellos (G.), Carbone (P.), Baron (S.), Levy (H.), Gralnick (H.). — « Clinical trials with the interferon (in F) inducer polyinosinic : cytidilic acid (PIC) ». 61st Annual Meeting of the American Association for Cancer Research ; Philadelphia, April 1970.

178. De Vries (M.J.), Vos (O.). — « Treatment of mouse lymphosarcoma by total body X irradiations, by injection of bone marrow and lymph node cells ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1957, **21**, 1117-1119.

179. De Vries (J.E.), Van't Hoog (A.G.), Titus (M.), Rumke (Ph.). — « Tumour specific humoral and cellular immunity in patients with malignant melanoma ». Fourth International Symposium on the Biological Characterisation of Human Tumours, Heidelberg 1971.

180. Diamond (L.), Crawford (L.V.). — « Some characteristics of large plaque and small plaque lines of polyoma virus ». *Virology* 1964, **22**, 235-244.

181. Diamond (L.). — « Cell transformation in vitro and tumor induction in vivo by large plaque and small plaque polyoma virus ». *Virology* 1964, **23**, 73-80.

182. Diggelmann (H.), Weissmann (C.). — « Rifampicin inhibits focus formation in chick fibroblasts infected with Rous Sarcoma virus ». *Nature* 1969, **224**, 1277-1279.

183. Doniach (I.), Crookston (J.H.), Cope (I.I.). — « Attempted treatment of a patient with choriocarcinoma by immunisation with her husband's cells ». *J. Obstet. Gynaecol. Brit. Avlth.* 1958, **65**, 553-556.

184. Donner (H.), Oth (D.), Burg (C.). — « Effets du BCG sur l'immunité induite par une tumeur isologue dans sa souche d'origine et chez des hybrides F 1 ». Communication personnelle.

185. Dore (J.F.), Motta (R.), Morholev (L.), Hrsak (Y.), Colas de la Noue (H.), Seman (J.), De Vassal (F.), Mathé (G.). — « New antigens in human leukaemia cells, and antibody in the serum of leukaemic patients ». *Lancet* 1967, **2**, 1396-1398.

186. Dore (J.F.). — « Serological evidence for immune reactions to leukemia in man ». Conference on "Immunological factors involved in the growth of primary tumors in human or animals hosts" ». Rye, 2-4 février 1969.

187. Dore (J.F.), Schneider (M.), Mathé (G.). — « Réactions immunitaires chez les souris AKR leucémiques ou préleucémiques ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1969, **14**, 1003-1007.

188. Druet (P.), Burtin (P.). — « Mise en évidence dans les cancers rénaux d'un antigène non présent dans le rein normal adulte ». *Eur. J. Cancer* 1967, **3**, 237-238.

189. Duff (R.), Rapp (F.). — « Reaction of serum from pregnant hamsters with surface of cells transformed by SV 40 ». *J. Immunol.* 1970, **105**, 521-523.

190. Dulaney (A.D.). — « Parotid gland tumors in Akr mice inoculated when newborn with cell-free AK leukemic extracts ». *Cancer Research* 1965, 877-879.

191. Dulaney (A.D.), Gross (M.F.). — « Serial passage of parotid gland tumor agent in mice. The activity of such tumor extracts for several strains of mice ». *Cancer Research* 1960, **20**, 887-890.

192. Dulbecco (R.). — « Viral Carcinogenesis ». *Cancer Research* 1961, **21**, 975-980.

193. Dulbecco (R.). — « Mechanisms of cell transformation by polyoma virus ». *Press. Biol. Med.* 1966, **9**, 298-305.

194. Eddy (B.E.), Stewart (S.E.). — « Physical properties and hemagglutining and cytopathogenic effects of the polyoma virus ». Proc. Third Canad. Conf. Honey Harbour. Ontario 1958, Academic Press.

195. Eddy (B.E.), Stewart (S.E.), Touchette (R.H.). — « Effect of immunization of adult female hamsters on the latence of infection in offspring inoculation with the S.E. polyoma virus ». *Fed. Proc.* 1959, **18**, 565.

196. Eilber (F.R.), Holmes (E.C.), Morton (D.L.). — « Immunotherapy experiments with a methylcholanthrene induced guinea pig liposarcoma ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1971, **46**, 803-808.

197. Evans (C.A.), Weiser (R.S.), Ito (Y.). — « Antiviral and antitumor immunologic mechanisms operative in the Shope papilloma carcinoma system ». *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1962, **27**, 453-462.

198. Evans (C.A.), Ito (Y.). — « Antitumor immunity in the Shope papilloma-carcinoma complex of rabbits. III. : Response to reinfection with viral nucleic acid ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1966, **36**, 1161-1166.

199. Farber (E.). — « Biochemistry of carcinogenesis ». *Cancer Research* 1968, **28**, 1859-1869.

200. Fass (L.), Herberman (R.B.), Ziegler (J.), Morron (R.H.). — « Evaluation of the effect of remission plasma on untreated patients with Burkitt's lymphoma ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1970, **44**, 145-149.

201. Fass (L.), Herbermann (R.B.), Ziegler (J.L.) et Kiryabwire (J.W.M.). — « Cutaneous hypersensitivity reactions to autologous extracts of malignant melanoma cells ». *Lancet* 1970, **1**, 116-118.

202. Faulk (W.P.), Mac Cormick (J.N.), Goodman (J.R.), Yoffey (J.M.), Fudenberg (H.H.). — « Peyer's patches : morphologic studies ». *Cellular Immunology* 1971, **1**, 500-520.

203. Favre (R.). — « Virus et cancer ». *Corse-Méditerranée Médicale* 1970, 61-72.

204. Favre (R.), Meyer (G.). — « Heterospecific tumour cells in protection and treatment of tumour homograft in the polyoma virus system ». Fourth International Symposium on the Biological Characterisation of Human Tumours. Heidelberg, 1971.

205. Favre (R.), Kleisbauer (J.P.), Laval (P.), Rathelot (P.). — « Corrélations entre la courbe de croissance tumorale, le taux de l'uricémie et la sensibilité thérapeutique ». *Presse médicale* 1971, **79**, 1393-1394.

206. Favre (R.), Kleisbauer (J.P.), Bonneau (H.). — « Hérédité et cancer ». *Sud médical et chirurgical* 1971, **107**, 51-72.

207. Fedyushin (M.P.). — « The experiment of application of antireticular cytotoxin serum in cancer cases ». *New. Med. Arch.* 1936, **41**, 534.

208. Fellig (J.), Wiley (C.E.). — *Arch. Biochem. Biophys.* 1959, **85**, 313.

209. Fenyo (E.M.), Klein (E.), Klein (G.), Swiech (K.). — « Selection of an immunoresistant Moloney lymphoma subline with decreased concentration of tumor specific surface antigens ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1968, **40**, 69.

210. Fichtelius (K.E.). — « The mammalian equivalent to bursa of Fabricius of bird ». *Exp. Cell Res.* 1967, **40**, 231.

211. Field (A.K.), Tytell (A.H.), Campson (G.P.), Hilman (M.R.). — « Inducers of interferon and host resistance. II. : Multistranded polynucleotide complexes ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1967, **58**, 1004.

212. Figari (F.). — « Dati sperimentali e clinici sulla terapia immunizzante delle neoplasia ». *Archivi di Biologia* (Genova) 1930, **7**, 3-9.

213. Finney (J.W.), Byers (E.H.), Wilson (R.H.). — « Studies on tumor autoimmunity ». *Cancer Research* 1960, **20**, 351-356.

214. Fisher (J.C.), Grace (W.R.), Mannick (J.A.). — « The effect of non specific immune stimulation with Corynebacterium parvum on patterns of tumor growth ». *Cancer* 1970, **26**, 1379-1382.

215. Fishman (M.), Adler (F.L.). — *J. Exp. Med.* 1963, **117**, 595.

216. Fishman (M.), Hammerton (R.A.), Bond (V.P.). — « In vitro transfer of macrophage Rna to lymph node cells ». *Nature* 1963, **198**, 549.

217. Fitzgerald (G.R.). — « The effect of interferon on focus formation and yield of murine sarcoma virus "in vitro" ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1969, **130,** 960.

218. Flamant (R.), Lasserre (O.), Leguerinais (J.). — « Résultats d'une enquête de morbidité par cancer dans trois départements français ». *Bull. INSERM.* 1966, **21,** 131.

219. Florentin (I.). — « Effet, selon la dose, du prétraitement chez la souris receveur d'homo-greffes de peau par des préparations lipoprotéiques, hydrosolubles et purifiées d'antigène H 2 ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1969, **15,** 690-693.

220. Fogel (M.), Sachs (L.). — « The in vitro and in vivo analysis of mammalian tumor viruses. IV. : Antibody response and tumor induction with polyoma virus in different species ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1960, **24,** 839-857.

221. Fogel (M.), Defendi (V.), Gilden (R.). — « Polyoma virus-induced "complement fixing antigen" in tumors and infected cells as detected by immunofluorescence ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1967, **124,** 1047-1052.

222. Foley (E.J.). — « Antigenic properties of methylcholanthrene induced tumours in mice of the strain of origin ». *Cancer Research,* 1953, **13,** 835-837.

223. Fontaine-Brouty-Boye (D.), Gresser (I.), Macieira-Coelho (A.), Rosenfeld (C.), Thomas (M.T.). — « Inhibition "in vitro" de la multiplication des cellules leucémiques murines L 1210 par des préparations d'interféron ». *C.R. Acad. Sci. Paris* 1969, **269,** 406.

224. Ford (C.E.). — « Traffic of lymphoid cells in the body ». Thymus, Ciba Foundation Symposium Boston, 1966. Little Brown and Co ed., p. 131.

225. Fougereau (M.). — « Immunologie moléculaire et cellulaire. Problèmes et faits ». C.E.S. de Biochimie Structurale et Métabolique 1971. Université de Provence.

226. Fraser (K.B.), Gharpure (M.). — « Immunofluorescent tracing of polyoma virus in transformation experiments with BHK 21 cells ». *Virology* 1962, **18,** 505-507.

227. Friedman (H.). — « Antibody plaque formation by normal mouse spleen cell cultures exposed in vitro to Rna from immune mice ». *Science* 1964, **146,** 934.

228. Fridman (W.H.), Kourilsky (F.M.). — « Stimulation of lymphocytes by autologous leukemic cells in acute leukemia ». *Nature* 1969, **224,** 277-279.

229. Furth (O.B.), Barnes (W.A.), Brower (A.B.). — « Studies on resistance to transmissible leukemia in mice by means of parabiosis ». *Arch. Pathol.* 1940, **29,** 163.

230. Gallo (R.C.), Yang (S.S.), Smith (R.G.), Herrera (F.), Ting (R.C.), Bobrow (C.), Davis (C.), Fujioka (S.). — « Rna and Dna dependent Dna polymerases of human and leukemic cells ». Lepetit Colloquia on Biology and Medecine. II. : The Biology of oncogenic Viruses. Paris, 1970, L.G. Silvestri Ed., 210-220.

231. Geering (G.), Old (L.J.), Boyse (E.A.). — « Antigens of leukemia induced by naturally occuring murine leukemia virus ; their relation to the antigens of Gross virus and other murine leukemia viruses ». *J. Exp. Med.* 1966, **124,** 753.

232. Gergely (L.), Klein (G.), Ernberg (I.). — « The action of Dna antagonists on Epstein-Barr Virus (EBV) associated early antigen (E.A.) in Burkitt lymphoma lines ». *Int. J. Cancer* 1971, **7**, 293-302.

233. Gergely (L.), Klein (G.), Ernberg (I.). — « Appearance of EBV associated antigens in infected Raji cells ». *Virology* 1971, **45**, 10-21.

234. Gergely (L.), Klein (G.), Ernberg (I.). — « Host cell macromolecular synthesis in cells containing EBV induced early antigens, studied by combined immunofluorescence and radioautography ». *Virology* 1971, **45**, 22-29.

235. Gershon (R.K.), Kondo (K.). — « Cells interactions in the induction of tolerance : the role of thymic lymphocytes ». *Immunology* 1970, **18**, 723.

236. Girardi (A.J.). — « Prevention of SV 40 virus oncogenesis in hamsters. I. : Tumor resistance induced by human cells transformed by SV 40 ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1965, **54**, 445-451.

237. Glick (B.). — « The bursa of Fabricius and the development of immunologic competence ». In "The thymus in Immunobiology", New York, 1964, Harper and Row, Ed., p. 343.

238. Goberson (A.), Feldman (M.). — « Antigenic specificity of benzopyrene induced sarcomas ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1964, **32**, 1229-1243.

239. Gold (D.), Freedman (S.O.). — « Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system ». *J. Exp. Med.* 1965, **122**, 467-481.

240. Gold (P.). — « Circulating antibodies against carcinoembryonic antigens of the human digestive system ». *Cancer* 1967, **20**, 1663-1667.

241. Golde (A.), Latarjet (R.). — « Dissociation par irradiation des fonctions oncogènes et infectieuses du virus de Rous, souche Schmidt-Ruppin ». *C.R. Acad. Sci.* 1966, **262 D**, 420-423.

242. Goldner (H.), Girardi (A.J.), Larson (V.M.), Hilleman (M.R.). — « Interruption of SV 40 virus tumorigenesis using irradiated homologous tumor antigen ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1964, **117**, 851-857.

243. Goldner (H.), Girardi (A.J.), Hilleman (M.R.). — « Enhancement in hamsters of virus oncogenesis attending vaccination procedures ». *Virology* 1965, **25**, 225-227.

244. Good (R.A.), Cain (W.A.). — « Relation-ship between thymus dependent cells and humoral immunity ». *Nature* 1970, **226**, 1256-1257.

245. Gorer (P.A.), Mikulska (Z.B.). — « The antibody response to tumor inoculation : improved methods of antibody detection ». *Cancer Research* 1954, **14**, 651.

246. Gorer (P.A.) and Amos (D.B.). — « Passive immunity of mice against C57 Bl leukosis E L 4 by means of iso-immune serum ». *Cancer Research* 1956, **16**, 338.

247. Gorer (P.A.), Kaliss (N.). — « The effect of isoantibodies in vivo on three different transplantable neoplasms in mice ». *Cancer Research* 1959, **19**, 824.

248. Gorer (P.A.), Tuffrey (M.A.), Batchelor (J.R.). — « Serological studies on the X antigens ». *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1962, **101**, 5.

249. Gorodilova (V.V.), Silina (I.G.), Saraeva (Z.M.). — « The first experience in vaccination against metastases in patients with breast cancer (in Russian) ». *Vop. Onkol.* 1965, **2**, 22-26.

250. Gowans (J.L.), Uhr (J.W.). — « The carriage of immunological memory by small lymphocyte in the rat ». *J. Exp. Med.* 1966, **124**, 1017.

251. Grace (J.T.), Gollan (F.), Taylor (W.L.), Carlson (R.I.). — « The effect of local infiltration of a heterologous antiserum of lymphoma cutis in man ». *Surgery Forum* 1957, **8**, 185-187.

252. Graf (L.), Rapport (M.M.). — « Immunochemical studies of human cancer lipids ». *Cancer* 1961, **14**, 415.

253. Graff (R.J.), Kandutsch (A.A.). — « Immunogenetic properties of purified antigen preparation from a mouse sarcoma ». *Transplantation* 1966, **4**, 465.

254. Graham (J.B.), Graham (R.M.). — « Antibodies elicited by cancer in patients ». *Cancer* 1955, **8**, 409-416.

255. Graham (J.B.), Graham (R.M.). — « The effect of vaccine on cancer patients ». *Surg. Gynecol. Obstet.* 1959, **109**, 131-138.

256. Graham (J.B.), Graham (R.M.). — « Autogenous vaccine in cancer patients ». *Surg. Gynecol. Obstet.* 1962, **114**, 1-4.

257. Green (H.N.), Anthony (H.M.), Baldwin (R.W.), Westrop (J.W.). — « An immunological approach to cancer ». *Butterworth* (London) 1967, 165-198.

258. Green (M.), Rokutanda (M.), Fujinaga (K.), Rokutanda (H.), Gurgo (C.), Ray (R.K.), Parson (J.T.). — « Synthesis of Dna by Rna tumor viruses and viral Rna by virus transformed cells ». Lepetit Colloquia on Biology and Medecine. II. : The biology of oncogenic Viruses. Paris, 1970, L.V. Silvestri Ed., p. 193-205.

259. Greenspan (I.), Brown (E.R.), Schwartz (S.O.). — « Immunologically specific antigens in leukemic tissues ». *Blood* 1963, **21**, 717-728.

260. Gresser (I.), Coppey (J.), Falcoff (E.), Fontaine-Brouty-Boye (D.). — « Action inhibitrice de l'interféron brut sur le développement de la leucémie de Friend chez la souris ». *C.R. Acad. Sci. Paris* 1966, **263**, 586.

261. Gresser (I.), Fontaine-Brouty-Boye (D.), Falcoff (E.), Falcoff (R.), Zajdela (F.), Bourali (C.), Thomas (M.T.). — « The effect of interferon preparations on Friend leukemia in mice ». Ciba Symposium on Interferon 1967, p. 240.

262. Gresser (I.), Coppey (J.), Fontaine-Brouty-Boye (D.), Falcoff (R.). — « Interferon and murine leukemia. III. : Efficacy of interferon preparations administered after inoculation of Friend virus ». *Nature* 1967, **215**, 174.

263. Gresser (I.), Coppey (J.), Falcoff (E.), Fontaine-Brouty-Boye (D.). — « Interferon and murine leukemia. I. : Inhibitory effect of interferon preparations on development of Friend leukemia in mice ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1967, **124**, 84.

264. Gresser (I.), Falcoff (R.), Fontaine-Brouty-Boye (D.), Zajdela (F.), Coppey (J.), Falcoff (E.). — « Interferon and murine leukemia. IV. : Further studies on the efficacy of interferon preparations administered after inoculation of Friend virus ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1967, **126**, 791.

265. Gresser (I.), Berman (L.), De The (G.), Fontaine-Brouty-Boye (D.), Coppey (J.), Falcoff (E.). — « Interferon and murine leukemia. V. : Effect of interferon preparations on the evolution of Rauscher disease in mice ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1968, **41**, 505.

266. Gresser (I.), Coppey (J.), Bouraly (C.). — « Action inhibitrice de l'interféron brut sur la leucémie lymphoïde des souris AKR ». *C.R. Acad. Sci. Paris* 1968, **267**, 1900.

267. Gresser (I.), Coppey (J.), Bouraly (C.). — « Interferon and murine leukemia. VI. : The effect of interferon preparations on the lymphoïd leukemia of AKR mice ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1969, **43**, 1083.

268. Gresser (I.), Bourali (C.). — Exogenous interferon and inducers of interferon in the treatment of Balb/c mice inoculated with RC 19 tumor cells ». *Nature* 1969, **223**, 844.

269. Gresser (I.), Bourali (C.), Chouroulinkov (I.), Fontaine-Brouty-Boye (D.), Thomas (M.T.). — « Treatment of neoplasia in mice with interferon preparations ». Second Conference on Antiviral Substances . *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1969.

270. Gresser (I.), Bourali (C.), Levy (J.P.), Fontaine-Brouty-Boye (D.), Thomas (M.T.). — « Increased survival in mice inoculated with tumor cells and treated with interferon preparations ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1969, **63**, 51.

271. Gresser (I.), Bourali (C.), Levy (J.P.), Fontaine-Brouty-Boye (D.), Thomas (M.T.). — « Prolongation de la survie des souris inoculées avec des cellules tumorales et traitées avec des préparations d'interféron ». *C.R. Acad. Sci. Paris* 1969, **268**, 994.

272. Gresser (I.). — « Interferon and cancer : therapeutic prospects ». *Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol.* 1970, **15**, 23-27.

273. Gresser (I.), Thomas (M.T.), Fontaine-Brouty-Boye (D.). — « Effect of interferon treatment of L 1210 cells in vitro on tumour and colony formation ». *Nature New Biology* 1971, **231**, 20-21.

274. Gross (L.). — « Intradermal immunization of C_3H mice against a sarcoma that originated in an animal of the same line ». *Cancer Research* 1943, **3**, 326.

275. Gross (L.). — « Pathogenic properties and "vertical" transmission of the mouse leukemia agent ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1951, **78**, 342.

276. Gross (L.). — « Immunological defect in aged population and its relationship to cancer ». *Cancer* 1965, **18**, 201.

277. Guérin (M.). — « Recherches expérimentales sur les leucémies et les tumeurs du système réticulo-endothélial ». *Rev. Hématol.* 1947, **2**, 13.

278. Guidetti (E.). — « Essais de traitement médical du cancer par des extraits lipidiques de tissus néoplasiques ». *Acta Union International Cancer* 1956, **12**, 365.

279. Guidetti (E.), Castoldi (C.). — « Recherches sur les lipides tissulaires de la glande mammaire humaine néoplasique et normale ». *Revue Belge Path. Méd. Exp.* 1956, **25**, 431.

280. Guidetti (E.). — « Chemical constitution of acetonic extracts of neoplasic human tissues and results of their therapeutical utilisation ». *Acta Union International Cancer* 1964, **20**, 421.

281. Guidetti (E.), Maisin (J.). — « A clinical trial of a biological treatment of advanced cancers in their terminal phase ». Abstracts of papers, IXth International Cancer Congress (Tokyo), 1966, **853**, 475.

282. Guidetti (E.). — « Quinze années d'expérience clinique d'un traitement antinéoplasique de type immunitaire ». *Bull. et Mém. de la Soc. de Méd. de Paris* 1967, **170**, 37-44.

283. Guyer (R.J.), Crowther (D.). — « Active immunotherapy in treatment of acute leukaemia ». *Brit. Med. J.* 1969, **4**, 406-407.

284. Habel (K.), Silverberg (R.J.). — « Relationship of polyoma virus and tumor in vivo ». *Virology* 1960, **12**, 463-476.

285. Habel (K.). — « Resistance of polyoma virus immune animals to transplanted polyoma tumors ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1961, **106**, 722-725.

286. Habel (K.). — « Antigenic properties of cells transformed by polyoma virus ». *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1962, **27**, 433-439.

287. Habel (K.). — « Polyoma tumor antigens in cells transformed in vitro by polyoma virus ». *Virology* 1962, **18**, 553-558.

288. Habel (K.). — « The relationship between polyoma virus multiplication, immunological competence and resistance to tumor challenge in the mouse ». *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1962, **101**, 173-180.

289. Habel (K.). — « Immunological determinants of polyoma virus oncogenesis ». *J. Exp. Med.* 1962, **115**, 181-193.

290. Habel (K.), Eddy (B.E.). — « Specificity of resistance to tumor challenge of polyoma and SV 40 virus immune hamsters ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1963, **113**, 1-4.

291. Habel (K.). — « Specific complement fixing antigens in polyoma tumors and transformed cells ». *Virology* 1965, **25**, 51-61.

292. Habel (K.). — « Virus tumor antigens : specified fingerprints ». *Cancer Research* 1966, **26**, 2018-2024.

293. Habel (K.). — « The biology of viral carcinogenesis ». *Cancer Research* 1968, **28**, 1825-1831.

294. Habel (K.). — « Malignant transformation by viruses ». In "Recent Results in Cancer Research", Kister W.H., Ed., 1968, **6**, 60-76.

295. Hackett (E.), Beech (M.). — « Immunological treatment of a case of choriocarcinoma ». *Brit. Med. J.* 1961, **3**, 1123-1126.

296. Haddow (A.), Alexander (P.). — « An immunological method of increasing the sensibility of primary sarcoma to local irradiation with X-rays ». *Lancet* 1964, **1**, 452.

297. Haggan (D.), Blacklow (N.R.), Rowe (W.P.). — « Studies of small Dna viruses found in various adenovirus preparations : physical, biological and immunological characteristics ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1966, **55**, 1467-1474.

298. Haenen-Severyngs (A.M.), Lejeune (G.), Castermans (A.), Philippart-Duponi (F.). — « Extraction of a soluble fraction inducing transplantation immunity in the mouse ». In "La greffe des cellules hématopoiétiques allogéniques". Paris, 1965, Ed. Centre Nat. de la Rech. Sci., p. 189.

299. Haenen-Severyngs (A.M.), Degiovani (G.), Castermans (A.), Lejeune (G.). — « Improved method for preparing soluble transplantation antigens from normal mouse tissues ». Proceedings of the First International Congress of the Transplantation Society. Paris, 27-30 June 1967, Advances in Transplantation, p. 283.

300. Halle-Pannenko (O.), Lamelin (J.P.), Amiel (J.L.), Matié (G.), Jolles (P.). — « Contribution à l'étude de l'antigène de greffe ; caractérisation d'une fraction hydrosoluble biologiquement active ». *C.R. Acad. Sci.* 1966, **262**, 531.

301. Halle-Pannenko (O.), Florentin (I.), Kiger (N.), Jolles (P.). — « Chromatographic purification of soluble graft antigens ». Advances in Transplantation. Copenhague 1967, Munksgaard, ed., p. 283.

302. Halle-Pannenko (O.), Kiger (N.), Martyré (M.C.), Jolles (P.). — « Nouvelles données concernant les antigènes de greffe hydrosolubles provenant de cellules murines tumorales B.P. 8 ». *Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol.* 1969, **14**, 288-291.

303. Halle-Pannenko (O.), Martyré (M.C.), Jolles (P.). — « Contribution to the solubilization and purification of H-2 antigens obtained from B.P. 8 murine cell membrane ». *Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol.* 1970, **15**, 687-691.

304. Halle-Pannenko (O.), Martyré (M.C.). — « Conditionning of allogenic skin graft recipients with crude and water soluble H-2 antigens derived from B.P. 8 murine tumor cell membrane ». *Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol.* 1970, **15**, 891-894.

305. Halliday (W.J.), Webb (M.). — « Delayed hypersensitivity to chemically-induced tumors in mice and correlation with an "in vitro" test ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1969, **43**, 141.

306. Halpern (B.). — « Lymphocyte et immunité ». *Lille médical* 1968, **13**, 1226-1234.

307. Hamilton-Fairley (G.). — « Immunity to malignant disease in man ». *Brit. med. J.* 1969, **2**, 467-473.

308. Hamilton-Fairley (G.). — « Tumor specific immune responses in patients with melanoma and leukemia ». Fourth International Symposium on the Biological Characterisation of Human Tumours, Heidelberg, 1971.

309. Haran-Guera (N.). — « The mechanism of radiation action in leukaemogenesis. The role of radiation in leukemia development ». *Brit. J. Cancer* 1967, **2**, 739.

310. Haran-Guera (N.). — « The role of immune impairment in viral leukaemogenesis ». Proceedings of a conference on "Immunity and tolerance in oncogenesis". Perugia Italy, June 1969.

311. Hare (J.D.). — « Transplant immunity to polyoma virus induced tumors. I. : Correlations with biological properties of virus strains ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1964, **115**, 805-810.

312. Hare (J.D.). — « Transplant immunity to polyoma virus induced tumors. II. : Evidence for host dependent immunogenic variation of polyoma virus ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1964, **117**, 598-603.

313. Hare (J.D.), Godal (T.). — « Transplant immunity to polyoma virus induced tumors. III. : Evidence for heterogeneity among transplant antigens in vivo ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1965, **118**, 532-636.

314. Hare (J.D.). — « Transplant immunity to polyoma virus induced tumor cells. IV. : A polyoma strain defective in transplant antigen induction ». *Virology* 1967, **31,** 625-632.

315. Harris (H.). — « Specific tumor antigen ». U.I.C.C. Monograph. Series. Copenhague, Munksgaard ed., 1967, vol. 2.

316. Harris (H.), Miller (O.J.), Klein (G.), Worst, Tachibana (T.). — « Suppression of malignancy by cell fusion ». *Nature* 1969, **223,** 363-368.

317. Harris (H.). — « Cell fusion ». The Dunham Lectures. Oxford 1970, Clarendon Press.

318. Haughton (G.). — « Extraction of H-2 antigens from mouse tumor cells ». *Transplantation* 1964, **2,** 251.

319. Heath (R.B.), Hamilton-Fairley (G.), Malpas (J.S.). — « Production of antibodies against viruses in leukemia and related diseases ». *Brit. J. Haematol.* 1964, **10,** 365.

320. Hellstrom (K.E.), Hellstrom (I.), Sjogren (H.O.). — « Further studies on kariotypes of a variety of primary and transplanted mouse polyoma tumors ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1963, **31,** 1239-1253.

321. Hellstrom (K.E.), Hellstrom (I.), Sjogren (H.O.). — « Kariotype and polyoma virus sensitivity in clones isolated from a polyoma induced mouse tumor ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1964, **32,** 635-643.

322. Hellstrom (K.E.), Moller (G.). — « Immunological and immunogenetic aspects of tumor transplantation ». *Progr. Allergy* 1965, **9,** 158-245.

323. Hellstrom (I.), Sjogren (H.O.). — « Demonstration of common specific antigen (s) in mouse and hamster polyoma tumors ». *Int. J. Cancer* 1966, **1,** 481-489.

324. Hellstrom (I.), Sjogren (H.O.). — « In vitro demonstration of humoral and cell bound immunity against common specific transplantation antigen (s) of adenovirus 12-induced mouse and hamster tumors ». *J. Exp. Med.* 1967, **125,** 1105-1118.

325. Hellstrom (I.), Hellstrom (M.E.), Pierce (G.E.). — « "In vitro" studies of immune reactions against autochtonous and syngenic mouse tumors induced by methylcholantrene and plastic discs ». *Int. J. Cancer* 1968, **3,** 467.

326. Hellstrom (I.), Hellstrom (K.E.), Pierce (G.E.), Bill (A.H.). — « Demonstration of cell-bound and humoral immunity against neuroblastoma cells ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1968, **39,** 595-599.

327. Hellstrom (K.), Hellstrom (I.). — « Cellular immunity against tumor antigens ». *Advan. Cancer Res.* 1969, **12,** 167-223.

328. Hellstrom (I.), Hellstrom (K.E.). — « Studies on cellular immunity and its serum mediated inhibition in Moloney virus-induced mouse sarcomas ». *Int. J .Cancer* 1969, **4,** 587-600.

329. Hellstrom (I.), Evans (C.A.), Hellstrom (K.E.). — « Cellular immunity and its serum mediated inhibition in Shope-virus-induced rabbit papillomas ». *Int. J. Cancer* 1969, **4,** 587-600.

330. Hellstrom (I.), Hellstrom (K.E.), Evans (C.A.), Heppner (G.H.), Pierce (G. E.), Yang (J.P.S.). — « Serum mediated protection of neoplastic cells from inhibition by lymphocytes immune to their tumor specific antigens ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1969, **62,** 362-368.

331. Hellstrom (I.), Hellstrom (K.E.), Pierce (G.E.), Fefer (A.). — « Studies on immunity to autochtonous mouse tumours ». *Transplantation Proceedings* 1969, **1**, 90-94.

332. Hellstrom (I.), Hellstrom (K.E.), Bill (A.H.), Pierce (G.E.), Yang (J.P.S.). « Studies on cellular immunity to human neuroblastoma cells ». *Int. J. Cancer* 1970, **6**, 172-188.

333. Hellstrom (I.), Hellstrom (K.E.), Sjogren (H.O.). — « Serum mediated inhibition of cellular immunity to methylcholanthrene induced murine sarcomas ». *Cellular Immunology* 1970, **1**, 18-30.

334. Hellstrom (K.E.), Hellstrom (I.). — « Immunological enhancement as studied by cell culture technique ». *Annu. Rev. Microbiol.* 1970, **24**, 373-398.

335. Hellstrom (I.), Hellstrom (K.E.), Storb (R.), Thomas (E.D.). — « Colony inhibition of fibroblasts from chimeric dogs mediated by the dog's own lymphocytes and specificially abrogated by their serum ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1970, **66**, 65-71.

336. Hellstrom (K.E.), Hellstrom (I.). — « Cell mediated immunity to tumor associated (specific ?) antigens of human tumors ». Fourth International Symposium on the Biological Characterisation of Human Tumors. Heidelberg 1971.

337. Hellstrom (I.), Hellstrom (K.E.), Sjogren (H.O.), Warner (G.A.). — « Demonstration of cell mediated immunity to human neoplasms of various histological types ». *Int. J. Cancer* 1971, **7**, 1-16.

338. Helm (F.), Klein (E.). — « Effect of allergic contact dermatitis on multiple superficial basal cell carcinomas ». *Arch. Dermat.* 1965, **91**, 142-114.

339. Helm (F.), Klein (E.), Traenkle (H.L.), Rivera (P.). — « Studies on the local administration of 2, 3, 5 triethylene, 1, 4 benzoquinone (Treminon) to epitheliomas ». *J. Invest. Dermatol.* 1965, **45**, 152-159.

340. Henle (G.), Deinhardt (F.), Rodriguez (J.). — « The development of polyoma virus in mouse embryo cells as revealed by fluorescent antibody staining ». *Virology* 1959, **8**, 388-391.

341. Henle (G.), Henle (W.). — « Immunofluorescence in cells derived from Burkitt's lymphoma ». *J. Bacteriol.* 1966, **91**, 1248-1256.

342. Henle (W.), Henle (G.), Ho (H.C.), Burtin (P.), Cachin (Y.), Clifford (P.), de Schryver (A.), De The (G.), Diehl (V.), Klein (G.). — « Antibodies to Epstein-Barr virus in nasopharyngeal carcinoma, other head and neck neoplasmas and control groups ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1970, **44**, 225-231.

343. Heppner (G.H.), Pierce (G.). — « "In vitro" demonstration of tumor specific antigens in spontaneous mammary tumors of mice ». *Int. J. Cancer* 1969, **4**, 212.

344. Heppner (G.H.). — « Studies on serum mediated inhibition of cellular immunity to spontaneous mouse mammary tumours ». *Int. J. Cancer* 1969. **4**, 608.

345. Herberman (R.B.). — « Studies on the specificity of human cytotoxic antibody reactive with cultures of lymphoid cells ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1969, **42**, 69-75.

346. Herbut (P.A.), Kraemer (W.H.). — « The possible role of the properdin system in transplantable human cancer ». *Cancer Research* 1956, **16,** 1048-52.

347. Hericourt (J.), Richet (C.). — « Remarques à propos de la note de M. Boureau sur la sérothérapie des néoplasmes ». *C.R. Acad. Sci.* 1895, **21,** 600-601.

348. Hilgard (H.R.). — « Synergism of thymus and bone marrow in the production of graft-versus-host splenomegaly in X–irradiated hosts ». *J. Exp. Med.* 1970, **133,** 317-328.

349. Hirai (H.). — « Specific antigenic proteins of rat ascites hepatomas ». U.I.C.C. Monograph Series 1967, **2,** 42.

350. Hiu (I.J.), Amiel (J.L.), Jolles (P.), Lederer (E.). — « Sur la structure d'une fraction peptido-glycolipidique (cires D) isolée de M. tuberculosis var hominis ». *Bull. Soc. Clin. Biol.* 1958, **40,** 1953.

351. Hiu (I.J.), Amiel (J.L.). — « Isolation of immunological adjuvant componant from BCG cells ». *Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol.* 1971, **16,** 55-58.

352. Hodkinson (M.), Taylor (G.). — « Autoimmune responses to human tumour antigens ». *Brit. J. Cancer* 1969, **23,** 510-514.

353. Hoerni (B.), Sekiguchi (M.). — « L'approche de l'immunothérapie des cancers. I. : L'antigénicité des cancers ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1966, **11,** 130-138.

354. Hoerni (B.), Sekiguchi (M.). — « L'approche de l'immunothérapie des cancers. II. : Bilan des essais expérimentaux et cliniques ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1966, **11,** 468-483.

355. Hoerni (B.), Chauvergne (J.). — « Principes de l'immunothérapie des cancers ». *Bordeaux médical* 1969, **2,** 297-304.

356. Hoerni (B.), Chauvergne (J.). — « Aspects immunologiques de la maladie de Hodgkin. Revue générale ». *France médical* 1969, **32,** 449-459.

357. Hoerni (B.), Simon (G.). — « L'immunothérapie des cancers humains ». *Les livrets du médecin* 1970, **2,** 561-568.

358. Hoerni (B.), Laporte (G.). — « Immunological disorders in the aetiology of lymphoreticular neoplasms ». *Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol.* 1970, **15,** 76.

359. Holmes (E.C.), Kahan (B.D.), Morton (D.L.). — « Soluble tumor-specific transplantation antigens in methylcholanthrene induced guinea pig sarcomas ». *Cancer* 1970, **25,** 373-379.

360. Holmes (E.C.), Morton (D.L.), Schidlowsky (G.), Trahan (E.). — « Cross reacting tumor specific transplantation antigens in methylcholanthrene-induced guinea pig sarcomas ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1971, **46,** 693.

361. Howard (R.J.), Notkins (A.L.), Mergenhagen (S.E.). — « Inhibition of cellular immune reactions in mice injected with lactic dehydrogenase virus ». *Nature* 1969, **221,** 873.

362. Hsu (T.C.), Benirschke (K.). — « An atlas of mammalian chromosomes ». 1967, Springer-Verlag Ed.

363. Hubner (G.), Klein (H.J.), Kleinsasser (D.), Schiefer (H.G.). — « Role of myoepithelial cells in the development of salivary gland tumors ». *Cancer* 1971, **27,** 1255-1261.

364. Hugues (L.E.), Lytton (B.). — « Antigenic properties of human tumours : delayed cutaneous hypersensitivity reactions ». *Brit. Med. J.* 1964, **1**, 209-212.

365, Hugues (L.E.), Mackay (W.D.). — « Suppression of the tuberculin response in malignant disease ». *Brit. Med. J.* 1965, **2**, 1346.

366. Hyde (R.M.), Garb (S.), Bennet (A.J.). — « Demonstration by immunoelectrophoresis of antigen in human myelogenous leukemia ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1967, **38**, 909-919.

367. Institut Gustave-Roussy. — « L'antigénicité des cellules cancéreuses, mise à jour 1967 ». *Carcinologie* 1962, Ed. Méd. Flammarion, 162 a - 162 w.

368. Irlin (I.S.). — « Immunofluorescent demonstration of a specific surface antigen in cells infected or transformed by polyoma virus ». *Virology* 1967, **32**, 725-728.

369. Isakovic (K.), Smith (S.B.), Waksman (B.H.). — « Role of the thymus in tolerance. I. : Tolerance to bovine gammaglobulin in thymectomized, irradiated rats grafted with thymus from tolerant donors ». *J. Exp. Med.* 1965, **122**, 1103.

370. Israel (L.), Mannoni (P.), Mawas (C.), Gineste (J.), Gross (B.), Sors (C.). — « 70 perfusions de lymphocytes homologués dans 25 cas de cancers avancés ». *Pathol. Biol.* 1967, **6**, 603-606.

371. Itoh (T.), Southam (C.M.). — « Isoantibodies to human cancer cells in cancer patients following cancer homotransplants ». *J. Immunol.* 1964, **93**, 926-936.

372. Jarret (O.). — « Different transplantation antigen in BHK 21 cells transformed by four strains of polyoma virus ». *Virology* 1966, **30**, 744-747.

373. Jasmin (C.), Rosenfeld (C.), Pitton (C.). — « Effet de l'iodo-acétamide sur les cellules tumorales non virales ou virales ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1967, **6**, 89.

374. Jasmin (C.), Rosenfeld (C.), Pitton (C.). — « Effet de l'iodo-i -acétamide sur le virus de Rauscher ». *C.R. Acad. Sci.* 1967, **264**, 511.

375. Jehn (U.W.), Karlin (L.). — « Independent action of thymus and bone marrow cells during the secondary response of direct plaque-forming cells ». *J. Immunol.* 1971, **106**, 946-950.

376. Jolly (J.). — « L'involution physiologique de la bourse de Fabricius et ses relations avec l'apparition de la maturité sexuelle ». *C.R. Soc. Biol.* 1913, **75**, 638.

377. Jolly (L.). — « La bourse de Fabricius et les organes lymphoépithéliaux ». *Arch. Anat. Micr. Morph. Exp.* 1914, **16**, 363.

378. Kahan (B.O.). — « Isolation of a soluble transplantation antigen ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1965, **53**, 153.

379. Kalisss (N.). — « The transplanted tumor as a research tool in cancer immunology ». *Cancer Research* 1961, **21**, 1203-1208.

380. Kaliss (N.). — « Immunological enhancement and inhibition of tumour growth : relationship of various immunological mechanisms ». *Fed. Proc.* 1965, **29**, 1024-1029.

381. Katz (D.H.), Paul (W.E.), Goidl (E.), Benaceraff (B.). — « Carrier function in anti-hapten immune responses. I. : Enhancement of primary and secondary anti-hapten antibody responses by carrier preimmunization ». *J. Exp. Med.* 1970, **132,** 261-282.

382. Kay (H.E.M.). — « States of immune deficiency ». *Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol.* 1970, **15,** 249-252.

383. Hellock (T.H.), Chambers (N.), Russ (S.). — « An attempt to produce immunity to malignant disease in man ». *Lancet* 1922, **1,** 217-19.

384. Kennedy (C.T.C.), Cater (D.B.), Hartveit (F.). — *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 1969, **77,** 196.

385. Kidd (J.G.). — « Regression of transplanted lymphomas induced in vivo by means of normal guinea pig serum (I. et II.) ». *J. Exp. Med.* 1953, **98,** 565-606.

386. Kidd (J.G.). — « Specificity and effects of antibodies that react with antigens of cancer cells : examples and derivative observations ». *Acta U.I.C.C.* 1959, **15,** 921.

387. Kidd (J.G.). — « Does the host react against his own cancer cells ? ». *Cancer Research* 1961, **21,** 1170-1186.

388. Kishida (T.), Kato (S.), Nagano (Y.). — « Effet du facteur inhibiteur du virus sur le fibrome de Shope ». *C.R. Soc. Biol.* 1965, **159,** 782.

389. Kit (S.). — « Enzymes inductions in cells cultures during productive and abortive infections by papovavirus SV 40 ». In "The Molecular Biology of viruses", 1967, Colter J.S., Parenchych ed.

390. Klein (G.), Sjogren (H.O.), Klein (E.), Hellstrom (K.E.). — « Demonstration of resistance against methylcholanthrene-induced sarcomas in the primary autochtonous host ». *Cancer Research* 1960, **20,** 1561.

391. Klein (G.), Sjogren (H.O.), Klein (E.). — « Demonstration of host resistance against isotransplantation of lymphomas induced by the Gross agent ». *Cancer Research* 1962, **22,** 955-961.

392. Klein (G.), Sjogren (H.O.), Klein (E.). — « Demonstration of host resistance against sarcomas induced by implantation of cellophane films in isologous (syngeneic) recipients ». *Cancer Research* 1963, **23,** 84.

393. Klein (G.). — « Tumor antigens ». *Annu. Rev. Microbiol.* 1966, **20,** 223-252.

394. Klein (G.), Clifford (P.), Klein (E.), Stjerwsward (J.). — « Search for tumour specific immune reactions in Burkitt lymphoma patients by the membrane immunofluorescence reaction ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1966, **55,** 1628-1635.

395. Klein (G.). — « Recent trends in tumour immunity ». *Isr. J. Med. Sci.* 1966, **2,** 135.

396. Klein (G.), Clifford (P.), Klein (E.), Smith (R.T.), Minawada (J.), Kourilsky (F.M.), Burchenal (J.H.). — « Membrane immunofluorescence reactions of Burkitt lymphoma cells from biopsy specimens and tissue culture ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1967, **39,** 1027-1044.

397. Klein (G.), Klein (E.), Clifford (D.). — « Host defenses in leukemia and Burkitt's tumor ». *Cancer* 1968, **21,** 587-594.

398. Klein (G.). — « Tumor specific transplantation antigens ». G.H.A. Clowes Memorial Lecture. *Cancer Research* 1968, **28**, 625-635.

399. Klein (G.), Gold (P.), Gold (M.), Freedman (S.D.), Day (E.D.), Abelev (G.I.), Kunkel (H.G.). — « Research of tumor specific antigens in other human cancers ». *Cancer Research* 1968, **28**, 1331-1356.

400. Klein (G.), Oettgen (H.F.). — « Immunologic factors involved in the growth of primary tumors in human or animal hosts ». *Cancer Research* 1969, **29**, 1741-1746.

401. Klein (G.), Geering (G.), Old (L.J.), Henle (G.), Henle (W.), Clifford (P.). « Comparison of the anti-EBV titer and the EBV-associated membrane reactive and precipitating antibody levels in the sera of Burkitt lymphoma and nasopharyngeal carcinoma patients and controls ». *Int. J. Cancer* 1970, **5**, 185-194.

402. Klein (G.). — « Tumor-associated antigens ». Fourth International Symposium on the Biological Characterisation of Human Tumours. Heidelberg, 1971.

403. Klein (G.), Prehn (R.T.). — « Tumor immunology ». First International Congress of Immunology. Washington, 1971.

404. Kleist (S. von), Burtin (P.). — « Localisation cellulaire d'un antigène embryonnaire de tumeurs coliques humaines ». *Int. J. Cancer* 1969, **4**, 874-879.

405. Koch (M.A.), Sabin (A.M.). — « Specificity of virus-induced resistance to transplantation of polyoma and SV 40 tumors in adult hamsters ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1963, **113**, 4-12.

406. Kolar (V.), Kolarova (M.). — « Les composés chimiothérapiques peuvent-ils induire des néo-antigènes ? ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1969, **15**, 688-690.

407. Koldovsky (P.), Svoboda (J.). — « On the question of the role of heterologous tolerance in possibility to immunize against tumour antigen ». *Folia Biol.* Prague 1962, **8**, 101.

408. Koldovsky (P.). — « Dangers and limitations of the immunological treatment of cancer ». *Lancet* 1966, **1**, 654-656.

409. Koldovsky (P.). — « Tumor specific transplantation antigen ». In "Recent Results in Cancer Research". Berlin/Heidelberg/New-York, 1969, Springer Verlag Ed., Vol. 22.

410. Koressios (N.T.). — « Le problème tissulaire et anti-tissulaire, ses applications dans la thérapeutique du cancer ». Paris. Librairie Maloine, 1956.

411. Kouchner (G.). — « Cancérologie. I. : Acquisitions récentes : génétique, virologie ». *Revue des Sciences Médicales*, 1971, **191.**

412. Kourilsky (F.M.). — « Etat actuel des recherches sur l'antigénicité de la cellule leucémique humaine ». *Bull. Cancer* 1966, **53**, 183-190.

413. Kraemer (C.). — « Polyoma virus dose — response studies in mice. II. : Characteristics of induced salivary gland tumors ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1962, **28**, 455-465.

414. Kronman (B.S.), Wespic (H.T.), Churchill (W.), Zbar (B.), Borsos (T.), Rapp (H.J.). — « Immunotherapy of cancer : an experimental model in syngenic guinea pigs ». *Science* 1970, **168**, 257-259.

415. Laborde (S.). — « Discussion of an article by de Nabias ». *Bull. Cancer* 1933, **22**, 235.

416. Lamb (D.), Pilney (F.), Kelly (W.D.), Good (R.A.). — « A comparative study of the anergy in patients with carcinoma, leukemia, Hodgkin's disease and other lymphomas ». *J. Immunol.* 1962, **89**, 555-558.

417. Landy (M.), Pillemer (L.). — « Increased resistance to infection and accompanying alteration in properdin levels following administration of bacterial lipopolysaccharides ». *J. Exp. Med.* 1956, **104**, 383-409.

418. Landy (M.), Shear (M.J.). — « Similarity of host responses elicited by polysaccharides of animal and plant origin and by bacterial endotoxins ». *J. Exp. Med.* 1957, **106**, 77-97.

419. Lapava (S.), Nigogosyan (G.), Pickren (J.W.). — « Fatal glomerulonephritis after receiving horse anti-human cancer serum. Report of three cases ». *Arch. Intern. Med.* 1962, **109**, 391-399.

420. Lappe (M.A.). — « Tumour specific transplantation antigens : possible origin in pre-malignant lesions ». *Nature* 1969, **223**, 82.

421. Lasserre (O.), Flamant (R.), Lellouch (J.), Schwartz (D.). — « Alcool et cancer (étude de pathologie géographique portant sur les départements français) ». *Bull. INSERM* 1967, **22**, 53.

422. Laszlo (J.), Buckley (C.E.), Amos (D.B.). — « Infusion of isologous immune plasma in chronic lymphocytic leukemia ». *Blood* 1968, **31**, 104-110.

423. Latarjet (R.), Morenne (P.), Berger (R.). — « Un appareil simple pour le dosage des rayonnements ultra-violets émis par les lampes germicides ». *Ann. Inst. Pasteur* 1953, **85**, 174-184.

424. Latarjet (R.), Chamaillard (L.). — « Action inhibitrice d'extraits leucémiques isologues irradiés sur la leucémogénèse spontanée de la souris AKR ». *Ann. Inst. Pasteur* 1964, **106**, 1-26.

425. Latarjet (R.). — « Interference in mouse leukemia : results and prospects ». In "Methodological Approaches to the Study of Leukemia". The Wistar Institute Symposium Monographs 1965, **4**, 105-112.

426. Latarjet (R.), Ennuyer (A.). — « Un traitement complémentaire de la maladie de Hodgkin par extrait tumoral irradié (expérimentation et essais cliniques) ». *Bull. Cancer* 1969, **56**, 221-230.

427. Laval (P.), Besson (J.), Meyer (G.), Kleisbauer (J.P.), Cesarini (J.P.), Rouquette (D.). — « Surveillance des défenses immunitaires au cours du traitement des carcinomes bronchiques primitifs ». *Bull. Cancer* 1971, **58**, 91.

428. Law (L.W.), Dawe (C.S.). — « Antibody status of mice and response of their litters to parotid tumor virus "polyoma virus" ». *Nature* 1959, **184**, 1420-1421.

429. Law (L.W.), Rowe (W.P.), Hartley (J.W.), Dawe (C.J.). — « Further studies on antibody status of mice and response of their litters to parotid-tumor (polyoma) virus ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1962, **28**, 629.

430. Law (L.W.). — « Studies of the significance of tumour antigens in induction and repression of neoplasic diseases : presidential adress ». *Cancer Research* 1969, **29**, 1-21.

431. Le François (D.), Youn (K.J.), Belehradek (J.), Barski (G.). — « Evolution of cell-mediated immunity in mice bearing tumors produced by a mammary carcinoma cell line. Influence of tumor growth, surgical removal and treatment with irradiated tumor cells ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1971, **46**, 981-986.

432. Levan (A.), Hsu (T.C.), Stich (H.F.). — « The idiogram of the mouse ». *Hereditas* 1963, **44**, 676-687.

433. Levinthal (J.D.), Jacobovits (M.), Eaton (M.D.). — « Polyoma disease and tumors in mice : the distribution of viral antigen detected by immunofluorescence ». *Virology* 1962, **16**, 314-319.

434. Levy (H.B.), Law (L.W.), Rabson (A.S.). — « Inhibition of tumor growth by polyinosinic-polycytidylic acid ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1969, **62**, 357.

435. Lewis (M.G.), Ikonopisov (R.L.), Nairn (R.C.), Philips (T.M.), Hamilton-Fairley (G.), Bodenham (D.C.), Alexander (P.). — « Tumour specific antibodies in human malignant melanoma and their relationship to extend of the disease ». *Brit. Med. J.* 1969, **3**, 547-552.

436. Lewis (M.G.), Phillips (T.M.), Cook (K.B.), Blake (J.). — « Possible explanation for less of detectable antibody in patients with disseminated malignant melanoma ». *Nature* 1971, **232**, 52-53.

437. Lewison (E.F.), Brown (R.W.), Thomas (J.W.), Sykes (J.E.), Ovary (Z.). — « "Protective" colostrum in the treatment of patients with advanced breast cancer ». *Arch. Surg. Chicago* 1960, **81**, 176-179.

438. Leyden (E.), Blumenthal (F.). — « Attempts to immunize humans by inoculation of their own cancer ». *Deutsche Med. Wochenschr.* 1902, **28**, 637-38.

439. Lherisson (A.M.), Meyer (G.), Bonneau (H.). — « Détection d'un antigène de membrane dans le système tumoral polyome-hamster ». *Bull. Cancer* 1967, **54**, 419-422.

440. Lherisson (A.M.), Meyer (G.), Cesarini (J.P.), Coste (G.), Bonneau (H.). — Titrage du pouvoir protecteur du virus polyome contre une souche cellulaire transplantable nouvellement isolée ». *C.R. Soc. Biol.* 1967, **161**, 378-380.

441. Lherisson-Straboni (A.M.). — « Contribution à l'étude des antigènes tumoraux induits par le virus polyome ». Thèse pour l'obtention du doctorat d'Etat en médecine. Marseille, 1969.

442. Lindenmann (J.), Klein (A.). — « Immunity to transplantable tumors following virus oncolysis ». Recent Results in Cancer Research. 1964, Springer-Verlag Ed., Vol. 9.

443. Linstrom (G.A.). — « Experimental study on myelotoxic sera. Therapeutic attempts in myeloid leukemia ». *Acta. Med. Scand.* (suppl.) 1927, **22**, 169.

444. Loisillier (F.), Buffe (D.), Tan (K.B.), Burtin (P.), Grabar (P.). — « Etude immunologique des épithéliomas mammaires humains ». *Ann. Inst. Pasteur* 1965, **109**, 1-21.

445. Loveless (M.H.). — « Immunological studies of pollinosis. I. : The presence of two antibodies related to the same pollen-antigen in the serum-treated Hay Fever Patients ». *J. Immunol.* 1940, **38**, 25.

446. Lucatello (L.), Malcon (C.). — « Di un siero leucolitico antileucemico ». *Gazzeta espid. Milano* 1913, **24**, 108-110.

447. Lunckenbein (P.). — « Zur Behandlung maligner Geschwülste ». *Münchener Med. Wochenschr.* 1914, **1**, 18-21.

448. Luzzi (M.), Depieds (R.). — « L'immunogénicité des extraits solubles de tumeurs du gros intestin humain ». *C.R. Acad. Sci.* 1969, **269**, 2483-2485.

449. Lwoff (A.), Tournier (P.). — « The classification of viruses ». *Annu. Rev. Microbiol.* 1966, **20**, 45-74.

450. Mac Credie (J.A.), Brown (E.R.), Cole (W.H.). — « Immunologic treatment of tumors ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1959, **100**, 31.

451. Mac Culloch (E.A.), Siminovitch (L.), Ham (A.W.), Axelrod (A.A.), Howatson (A.F.). — « Carcinogenesis in vivo by polyoma virus ». Canadian Cancer Conference. *Acad. Press* (London), 1961, **4**, 253-270.

452. Mac Kenna (J.M.), Sanderson (R.P.), Blakemore (W.S.). — « Studies of the antigens of human tumors. I. : Demonstration of a soluble antigen in HeLa cells and some human tumors ». *Cancer Research* 1964, **24**, 754-762.

453. Mac Mahon (B.). — « Epidemiologic aspects of acute leukemia and Burkitt's tumour ». *Cancer* 1968, **21**, 558.

454. Mac Pherson (I.), Stoker (M.). — « Polyoma transformation of hamster cell clones. An investigation of genetic factors affecting cell competence ». *Virology* 1962, **16**, 147-151.

455. Mac Pherson (I.). — « Characteristics of a hamster cell clone transformed by polyoma virus ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1963, **30**, 795-815.

456. Mac Pherson (I.), Montagnier (L.). — « Agar suspension culture for the selection assay of cells transformed by polyoma virus ». *Virology* 1964, **23**, 291-294.

457. Maisin (J.). — « Essai d'immuno-prophylaxie de cancers expérimentalement provoqués ». *Bull. Acad. Roy. de Médecine Belge* 1964, **4**, 197.

458. Maisin (J.). — « Tumor specific antigens and prophylaxis of chemically-induced cancers ». U.I.C.C. Monograph Series 1967, **2**, 67.

459. Malmgreen (R.A.), Takemoto (K.K.), Carney (P.G.). — « Immunofluorescent studies of mouse and hamster cell surface antigens induced by polyoma virus ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1968, **40**, 263-268.

460. Manly (K.F.), Smoler (D.F.), Bromfeld (E.), Baltimore (D.). — « Forms of Dna produced by virions of the Rna tumor viruses ». Lepetit Colloquia on Biology and Medecine. II. : The Biology of Oncogenic Viruses. Silvestri L.G. Ed. 1970, 188-192.

461. Mannick (J.A.), Egdahl (R.H.). — *J. Clin. Invest.* 1964, **43**, 2166.

462. Manson (L.A.). — « Microsomal lipoprotein as transplantation antigen ». *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1964, **1**, 120.

463. Marbrook (J.). — « Primary immune response in cultures of spleen cells ». *Lancet* 1967, **2**, 1279.

464. Marchuk (P.D.). — « A method of preparing and preserving antireticular cytotoxic serum ». *Ann. Rev. Soviet. Med.* 1943, **1**, 113-123.

465. Mardiney (M.R.), Bloch (J.B.), Serpick (A.A.). — « Immunotherapy for leukemia : quantitive aspects and adjuvant relationship to chemotherapy ». *Cancer Chemother. Rep.* 1969, **53**, 3-12.

466. Martin (D.C.), Rubini (M.), Rosen (V.J.). — « Cadaveric renal homotransplantation with inadvertent transplantation of carcinoma ». *J. Amer. Med. Ass.* 1965, **192**, 752-754.

467. Martin (F.), Bourgeaux (C.), Martin (M.S.). — « Carcinoma foetal antigens of the human digestive tumour. How specific are they ? ». Fourth International Symposium on the Biological Characterisation of Human Tumours. Heidelberg, 1971.

468. Martyré (M.C.), Halle-Pannenko (O.). — « Extraction et purification de néo-antigènes tumoraux obtenus à partir des cellules spléniques et du sérum de souris porteuses de la leucémie de Charlotte Friend ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1968, **8**, 1010-1012.

469. Mason (S.), Warner (N.L.). — « The immunoglobulin nature of the antigen recognition site on cells mediating transplantation immunity and delayed hypersensitivity ». *J. Immunol.* 1970, **104**, 762-765.

470. Mathé (G.), Bernard (J.), Schwarzenberg (L.), Larrieu (M.J.), Lalanne (C.), Dutreix (J.), Denoix (P.), Surmont (J.), Schwarzmann (V.), Ceoara (B.). — « Essai de traitement de sujets atteints de leucémie aiguë en rémission par irradiation totale suivie de transfusion de moelle osseuse homologue ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1959, **4**, 675-704.

471. Mathé (G.), Bernard (J.). — « Essai de traitement de la leucémie L 1210 par l'irradiation X suivie de transfusion de cellules hématopoiétiques normales ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1959, **4**, 442-446.

472. Mathé (G.), Amiel (J.L.). — « La greffe : aspects biologiques et cliniques ». Paris, 1962, Masson éd.

473. Mathé (G.), Amiel (J.L.), Friend (C.). — « Essai de traitement de la leucémie de Charlotte Friend par la greffe de cellules hématopoiétiques de donneurs vaccinés ». *Bull. Cancer* 1962, **49**, 416.

474. Mathé (G.). — « Les greffes de cellules hématopoiétiques et leurs applications ». *Presse médicale* 1964, **72**, 2391-2394.

475. Mathé (G.), Amiel (J.L.). — « Réduction de la concentration plasmatique du virus de Charlotte Friend par immunothérapie adoptive ». *C.R. Acad. Sci.* 1964, **259**, 4408.

476. Mathé (G.), Dausset (J.), Hervet (E.), Amiel (J.L.), Colombani (J.), Brule (G.). « Immunological studies in patients with placental choriocarcinoma ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1964, **33**, 193-208.

477. Mathé (G.). — « Les réactions immunologiques (spontanées ou à visées thérapeutiques) et l'évolution des cancers (revue générale). ». *Europ. J. Cancer* 1965, **1**, 1-14.

478. Mathé (G.), Amiel (J.L.), Schwarzenberg (L.), Cattan (A.), Schneider (M.). — « Adoptive immunotherapy of acute leukemia : experimental and clinical research ». *Cancer Research* 1965, **25**, 1525-1531.

479. Mathé (G.). — « L'immunothérapie des cancers ». *Presse Médicale* 1967, **75**, 947-949.

480. Mathé (G.). — « Immunothérapie adoptive locale de la leucémie L 1210 ascitique par des cellules lymphoïdes allogéniques libres ou en chambre de diffusion immunisées ou non contre des cellules leucémiques ou des cellules DBA/2 normales ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1967, **3**, 42.

481. Mathé (G.). — « Antigénicité nouvelle démontrée par isogreffe d'un fragment de peau prélevé 5 jours après injection intradermique de diméthyl-benzenthracène ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1967, **12**, 380.

482. Mathé (G.). — « Antigénicité nouvelle démontrée par isogreffe d'un fragment de peau prélevé chez des souris infectées par un virus leucémogène ». *C.R. Acad. Sci.* 1967, **264**, 2702.

483. Mathé (G.), Hayat (M.), Schneider (M.), Amiel (J.L.), Schwarzenberg (L.), Cattan (A.), Schlumberger (J.R.), Fajbisowicz (S.). — « Etude par le test au B.C.G. de l'effet des chimiothérapies anticancéreuses sur les défenses immunitaires ». *Brit. Med. J.* 1967, **6**, 72.

484. Mathé (G.), Schwarzenberg (L.), Amiel (J.L.). — « Approches immunologiques du traitement des leucémies. Premiers résultats chez l'homme ». *Nouv. Rev. Fr. Hématol.* 1967, **7**, 721-738.

485. Mathé (G.), Schwarzenberg (L.), Amiel (J.L.), Schneider (M.), Cattan (A.), Schlumberger (J.R.). — « The immunological approach to the treatment of human cancer ». *Europ. J. Cancer* 1967, **3**, 423-433.

486. Mathé (G.), Schwarzenberg (L.), Amiel (J.L.), Schneider (M.), Cattan (A.), Schlumberger (J.R.). — « The role of immunology in the treatment of leukemias and hematosarcomas ». *Cancer Research* 1967, **27**, 2542-2553.

487. Mathé (G.), Schwarzenberg (L.), Amiel (J.L.), Schneider (M.), Cattan (A.), Schlumberger (J.R.). — « Approches immunologiques du traitement des cancers chez l'homme ». *Bull. Cancer* 1967, **54**, 33-54.

488. Mathé (G.). — « Immunothérapie active de la leucémie L 1210 appliquée après la greffe tumorale ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1968, **13**, 881-883.

489. Mathé (G.). — « La chimiothérapie des cancers ». Paris, 1968, Expansion Scientifique éd.

490. Mathé (G.), Amiel (J.L.), Dore (J.F.). — « Les néoantigènes des cellules cancéreuses et leurs significations ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1968, **13**, 937-940.

491. Mathé (G.), Amiel (J.L.), Schwarzenberg (L.), Schneider (M.), Cattan (A.), Schlumberger (J.R.), Hayat (M.), de Vassal (F.). — « Démonstration de l'efficacité de l'immunothérapie active dans la leucémie aiguë lymphoblastique humaine ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1968, **13**, 454-459.

492. Mathé (G.). — « Approaches to the immunological treatment of cancer in man ». *Brit. Med. J.* 1969, **4**, 7-10.

493. Mathé (G.), Amiel (J.L.), Schwarzenberg (L.), Schneider (M.), Cattan (A.), Schlumberger (J.R.), Hayat (M.), De Vassal (F.). — « Active immunotherapy for acute lymphoblastic leukaemia ». *Lancet* 1969, **1**, 697-698.

494. Mathé (G.), Amiel (J.L.), Schwarzenberg (L.), Hayat (M.), Schneider (M.), Cattan (A.), Schlumberger (J.R.), De Vassal (F.), De Pouillard (P.), Jasmin (C.), Rosenfeld (C.). — « Les diverses approches immunologiques du traitement des cancers humains. Les premiers pas de l'immunothérapie active ». Rapport au XXXVII[e] Congrès français de Médecine, 1969. Masson et C[ie], Ed.

495. Mathé (G.), Dore (J.F.), Schneider (M.). — « Immunodépression et cancer ». X[e] Congrès International de Thérapeutique, Paris, 1969. Doin Ed.

496. Mathé (G.), Pouillart (P.), Lapeyraque (F.). — « Active immunotherapy of L 1210 leukaemia applied after the graft of tumour cells ». *Brit. J. Cancer* 1969, **23**, 814.

497. Mathé (G.). — « Traitement des leucémies aiguës selon une stratégie combinant chimiothérapie et immunothérapie active ». *Médecine et Hygiène* 1970, **28**, 9-11.

498. Mathé (G.), Amiel (J.L.), Schwarzenberg (L.), Schneider (M.), Hayat (M.), de Vassal (F.), Jasmin (C.), Rosenfeld (C.), Sakouhi (M.), Choay (J.). — « Remission induction with poly IC in patients with acute lymphoblastic leukemia (preliminary results) ». *Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol.* 1971, **15**, 671-673.

499. Mathé (G.), Amiel (J.L.), Schwarzenberg (L.), Choay (J.), Trolard (P.), Schneider (M.), Hayat (M.), Schlumberger (J.R.), Jasmin (C.). — « Bone marrow graft in man after conditioning by antilymphocytic serum ». *Brit. Med. J.* 1970, **2**, 131-135.

500. Mathé (G.). — « Active immunotherapy ». *Advances in Cancer Research* 1971, **14**, 1-31.

501. Mathé (G.). — « Strategy for the treatment of acute lymphoblastic leukemia ». 13rd International Congress of Pediatrics, Wien, 1971.

502. Mathé (G.), Pouillard (P.), Sterescu (M.), Amiel (J.L.), Schwarzenberg (L.), Schneider (M.), Hayat (M.), De Vassal (F.), Jasmin (C.), Lafleur (M.). — « Subdivision of classical varietes of acute leukemia : correlation with prognosis and cure expectancy ». *Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol.* 1971, **16**, 554-560.

503. Mathé (G.), Amiel (J.L.), Schwarzenberg (L.), Schneider (M.), Hayat (M.), De Vassal (F.). — « Preliminary results of a new protocol for active immunotherapy of acute lymphoblastic leukemia : inhibition of the immunotherapeutic effect by vincristine or by adamantadine ». *Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol.* 1971, **16**, 216.

504. Mathé (G.), Amiel (J.L.), Schwarzenberg (L.), Schneider (M.), Jasmin (C.), Rosenfeld (C.). — « Preliminary results of a new protocol for active immunotherapy (A.I.) of human acute lymphoblastic leukemia (A.L.L.) ». Fourth International Symposium on the Biological Characterisation of Human Tumours. Heidelberg, 1971.

505. Melnick (J.L.). — « Papovavirus Group ». *Science* 1962, **135**, 1128.

506. Mendoza (C.B.), Moore (G.E.), Watne (A.L.), Hiramoto (R.), Jurand (J.). — « Immunologic response following homologous transplantation of cultured human tumor cells in patients with malignancy ». *Surgery* 1968, **64**, 897-900.

507. Metcalf (D.), Moulds (R.). — « Immune responses in preleukaemic and leukaemic AkR mice ». *Int. J. Cancer* 1967, **2**, 53.

508. Meyer (G.), Lherisson (A.M.), Bonneau (H.). — « Evolution en immunofluorescence de l'antigène tumoral induit par le virus polyome dans la souche BHK21 ». *Bull. Cancer* 1967, **54**, 79-86.

509. Meyer (G.), Lherisson (A.M.), Loko (H.). — « Rapport entre la multiplicité d'infection par le virus polyome et l'induction de l'antigène tumoral nucléaire ». *C.R. Soc. Biol.* 1967, **161,** 1124-1126.

510 Meyer (G.), Fondarai (J.), Lherisson (A.M.). — « Relation entre les temps d'apparition des tumeurs et la dose de cellules injectées dans le système polyome-hamster ». *C.R. Soc. Biol.* 1967, **161,** 2215-2217.

511. Meyer (G.), Cochet (G.), Moutaffian (M.), Bonneau (H.). — « Tentative de protection du hamster nouveau-né contre la tumeur polyome par injections itératives de virus ». *C.R. Soc. Biol.* 1968, **162,** 502.

512. Meyer (G.), Lherisson (A.M.), Fondarai (J.). — « Analyse du pouvoir protecteur du polyome irradié aux ultraviolets vis-à-vis de la tumeur polyome greffée ». *C.R. Soc. Biol.*, 1968, **162,** 1535.

513. Meyer (G.), Fondarai (J.), Lherisson (A.M.), Bonneau (H.). — « Mise en évidence d'une souche de virus polyome n'induisant pas d'antigène de protection de greffe ». *C.R. Soc. Biol.* 1968, **162,** 1984-1987.

514. Meyer (G.), Fondarai (J.), Bonneau (H.). — « Données nouvelles sur l'influence de l'irradiation aux ultraviolets du virus polyome sur l'antigène de transplantation ». *C.R. Soc. Biol.* 1968, **162,** 2171-2173.

515. Meyer (G.), Lherisson-Straboni (A.M.), Bonneau (H.). — « Sensibilité différentielle aux rayons ultraviolets de quelques fonctions du virus polyome ». *Int. J. Cancer* 1969, **4,** 520-532.

516. Meyer (G.). — « Discussion sur la communication de M.M.G. Lewis ». *Rev. Inst. Pasteur* (Lyon) 1970, **3,** 203-205.

517. Meyer (G.). — « Viral genome and oncogenic transformation : nuclear and plasma membrane events ». *Advances in Cancer Research* 1971, **14,** 71-153.

518. Mihich (E.). — « Combined effects of chemotherapy and immunity against leukemia L 1210 in DBA/2 mice ». *Cancer Research* 1969, **29,** 848-854.

519. Milgrom (F.). — « A short review of immunological investigations on cancer ». *Cancer Research* 1961, **21,** 862-868.

520. Miller (J.F.A.P.). — Immunological function of the thymus ». *Lancet* 1961, **2,** 748.

521. Miller (D.G.), Diamond (H.D.). — « The biological basis and clinical applicants of bone marrow transplants ». *Med. Clin. N. Amer.* 1961, **45,** 711-731.

522. Miller (D.G.). — « Patterns of immunological deficiency in lymphomas and leukemias ». *Ann. Intern. Med.* 1962, **57,** 703.

523. Miller (J.F.A.P.). — « Thymus and the development of immunologic responsiveness ». *Science* 1964, **144,** 1544.

524. Miller (D.G.). — « Rémission prolongée après irradiation X et transfusion de moelle osseuse chez un malade atteint de lymphosarcome ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1965, **10,** 84-86.

525. Miller (J.F.A.P.), De Burgh (P.M.), Grant (G.A.). — « The thymus and the production of antibody-plaque forming cells ». *Nature* 1965, **208,** 1332.

526. Miller (E.C.), Miller (J.A.). — « Mechanisms of chemical carcinogenesis : nature of proximate carcinogens and interactions with macromolecules ». *Pharmacol. Rev.* 1966, **18**, 805.

527. Miller (J.F.A.P.), Mitchell (G.F.). — « The thymus and the precursors of antigen reactive cells ». *Nature* 1967, **216**, 659.

528. Miller (J.F.A.P.), Mitchell (G.F.), Weiss (N.S.). — « The cellular basis of the immunological defects in thymectomized mice ». *Nature* 1967, **214**, 992.

529. Miller (J.F.A.P.), Osoba (D.). — « Curent concepts of the immunological function of the thymus ». *Physiol. Rev.* 1967, **47**, 437.

530. Miller (D.G.). — « The immunologic capability of patients with lymphoma ». *Cancer Research* 1968, **28**, 1441-1448.

531. Miller (J.F.A.P.), Mitchell (G.F.). — « Cell to cell interaction in the immune response. I. : Hemolysin forming cells in neonatally thymectomized mice reconstituted with thymus or thoracic duct lymphocytes ». *J. Exp. Med.* 1968, **128**, 801.

532. Miller (J.F.A.P.), Mitchell (G.F.). — « Intereraction between two distinct cell lineages in a immune response. In "Lymphatic tissues and germinal centers in immune response" ». *Adv. Exp. Med. Biol.* New York 1969. H. Cottier and C.C. Congdon, eds. Plenum Publishing corps.

533. Miller (J.F.A.P.). — « Interaction entre les cellules de lignée thymique et médullaire dans la réponse immunitaire ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1969, **14**, 614-621.

534. Miller (J.F.A.P.), Mitchell (G.F.). — « Cell to cell interaction in the immune response. V. : Target cells for tolerance induction ». *J. Exp. Med.* 1970, **131**, 675.

535. Miller (J.F.A.P.), Cudkowicz (G.). — « Cell cooperation in the immune response ». First International Congress of Immunology. Washington, 1971.

536. Miller (J.F.A.P.), Sprent (J.). — « Thymus derived cells in mouse thoracic duct lymph ». *Nature New Biology* 1971, **230**, 267-270.

537. Millian (S.), Schaeffer (M.). — « Antibody production by mice infected with selected murine oncogenic agents ». *Cancer* 1968, **21**, 789.

538. Mitchell (G.F.), Miller (J.F.A.P.). — « Immunological activity of thymus and thoracic duct lymphocytes ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1968, **59**, 296.

539. Mitchell (G.F.), Miller (J.F.P.A.). — « Cell to cell interaction in the immune response. II. : The source of hemolysin forming cells in irradiated mice given bone marrow and thymus or thoracic duct lymphocytes ». *J. Exp. Med.* 1968, **128**, 821.

540. Mitchison (N.A.). — « Isoantibody against a tumor ». *Transplant. Bull.* 1955, **2**, 93.

541. Mitchison (N.A.). — « Antigen recognition responsible for the induction "in vitro" of the secondary response ». *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1967, **32**, 431.

542. Moller (R.G.). — « Effect on tumor growth in syngenic recipients of antibodies against tumour specific antigens in methylcholanthrene induced mouse sarcomas ». *Nature* 1964, **204**, 846-847.

543. Monaco (A.P.), Wood (M.L.), Russel (P.L.). — « Preparation of murine transplantation antigens ; ultracentrifugal distribution, physical properties and biological activity ». *Transplantation* 1965, **3**, 542.

544. Montagnier (L.), Mac Pherson (I.). — « Croissance sélective en gélose de cellules de hamster transformées par le virus du polyome ». *C.R. Acad. Sci.* 1964, **258**, 4171-4173.

545. Montagnier (L.). — « Virus et cancer ». *La Recherche* 1970, **1**, 47-62.

546. Moore (G.E.), Sandberg (A.), Amos (D.B.). — « Experimental and clinical adventures with large doses of gamma and other globulins as anticancer agents ». *Surgery* 1957, **41**, 972-983.

547. Moore (A.E.). — « The oncolytic virus ». *Progr. Exp. Tumour Res.* 1960, **1**, 411-439.

548. Moore (G.E.), Grace (J.F.). — « Cancer immunity ». *Surg. Gynecol. Obstet.* 1960, **67**, 396-398.

549. Moore (M.A.S.), Owen (J.J.T.). — « Experimental studies on the development of the bursa of Fabricius ». *Develop. Biol.* 1966, **14**, 40.

550. Moore (M.A.S.), Owen (J.J.T.). — « Stem-cell migration in developing myeloïd and lymphoïd systems ». *Lancet* 1967, **2**, 658.

551. Morgan (J.F.), Eng (C.P.). — « The induction of immunoprotection by mouse ascite tumor cells attenuated in tissue culture ». Fourth International Symposium on the Biological Characterisation of Human Tumours. Heidelberg, 1971.

552. Morton (D.L.), Goldman (L.), Wood (D.). — « Tumor specific antigenicity of methylcholanthrene and dibenzenthracene induced sarcomas of inbred guinea pigs ». *Fed. Proc.* 1965, **24**, 684.

553. Morton (D.L.), Malmgren (R.A.). — « Human osteosarcomas : immunological evidence suggesting an associated infectious agent ». *Science* 1968, **162**, 1279-1281.

554. Morton (D.L.), Miller (G.F.), Wood (D.A.). — « Demonstration of tumor-specific immunity against antigens unrelated to the mammary tumor virus in spontaneous mammary adenocarcinomas ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1969, **42**, 289.

555. Morton (D.L.). — « Cancer immunology and the surgeon ». *Surgery* 1970, **67**, 396-398.

556. Morton (D.L.), Eilber (F.R.), Malmgren (R.A.). — « Immunological factors which influence response to immunotherapy in human malignant melanoma ». *Surgery* 1970, **68**, 158-164.

557. Mosier (D.E.), Coppleson (L.W.). — « A three cell interaction required for the induction of the primary immune response "in vitro" ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1968, **61**, 542.

558. Moss (B.), Rosenblum (E.N.), Katz (E.), Grimley (P.M.). — « Rifampicin : a specific inhibitor of vaccina virus assembly ». *Nature* 1969, **224**, 1280-1284.

559. Motta (R.). — « Utilisation des tests d'inhibition de cytotoxicité pour le dosage de l'antigène de greffe "in vivo" chez la souris ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1968, **13**, 713.

560. Motta (R.). — « Approche de l'immunothérapie passive ». C.E.B.H. de Cancérologie Expérimentale, 1969 (Prof. G. Mathé).

561. Motta (R.). — « Passive immunotherapy of leukemia and other cancers ». *Advances in Cancer Research* 1971, **14**, 161-174.

562. Moulias (R.), Berthaux (P.). — « Les populations cellulaires responsables de la réponse immunitaire ». *La Revue du Praticien* 1971, **21**, 839-859.

563. Munster (A.M.), Wheeler (H.B.), Corson (J.M.). — « Modification of the skin allograft response across the H 2 locus by pre-treatment with transplantation antigens ». *Nature* 1967, **215**, 539.

564. Muray (G.). — « Experiments in immunity in cancer ». *Can. Med. Ass. J.* 1958, **79**, 972-983.

565. Nabias (S. de). — « Note sur le traitement biologique des cancers ». *Bull. Cancer* 1933, **22**, 225-236.

566. Nadler (S.H.), Moore (G.E.). — « Immunotherapy of malignant disease ». *Arch. Surg.* 1969, **99**, 376-381.

567. Nathenson (S.), Davies (D.). — « Mouse histocompatibility isoantigens : solubilisation and partial purification of H-2 isoantigens from tumor cell derived lipoprotein ». *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1966, **126**, 6.

568. Nauts (H.E.), Coley (B.L.). — « A review of the treatment of malignant tumors by coley bacterial toxins ». *Approaches to Tumor Chemotherapy* 1947, **3**, 217-235.

569. Nazarenko (N.A.). — « The obtaining of anti-cancer sera of narrow specificity ». *Prob. One* 1960, **6**, 324-29.

570. Nelson (R.A.). — « An alternative mechanism for the properdin system ». *J. Exp. Med.* 1958, **108**, 515-35.

571. Nettleship. — « Regression produced in the murphy lymphosarcoma by the injection of heterologous antibodies ». *Ann. J. Pathol.* 1945, **21**, 527.

572. Neveu (T.), Branellec (A.), Biozzi (G.). — « Propriétés adjuvantes de Corynebacterium parvum sur la production d'anticorps et sur l'induction de l'hypersensibilité retardée envers des protéines conjuguées ». *Ann. Inst. Pasteur* 1964, **106**, 771.

573. Ngu (V.). — « Host defenses to Burkitt tumour ». *Brit. Med. J.* 1967, **1**, 345-347.

574. Nossal (G.J.V.), Cunningham (A.), Mitchell (G.F.), Miller (J.F.A.P.). — « Cell to cell interaction in the immune response. III. : Chromosomal marker analysis of single antibody forming cells in reconstituted, irradiated or thymectomized mice ». *J. Exp. Med.* 1968, **128**, 839.

575. Nungester (W.J.), Fisher (H.). — « The inactivation "in vivo" of mouse lymphosarcoma 6 C_1 RED by antibodies produced in foreign host species ». *Cancer Research* 1954, **14**, 284.

576. Nungester (W.J.), Bierwaltes (W.), Knorpp (C.). — « Cités par Vial and Callahan ». *Cancer* 1957, **10**, 999-1103.

577. Odaka (T.), Ishii (H.), Yamaura (K.), Yamamoto (T.). — « Inhibitory effect of Friend leukemia virus infection on the antibody formation to sheep erythrocytes in mice ». *Jap. J. Exp. Med.* 1966, **36**, 277.

578. Odier (J.). — Travaux du : "3rd International Conference on Cancer" (Brussels). 1913, August, 1-5.

579. Oettgen (H.F.), Old (L.J.), Mac Lean (E.P.). — « Delayed hypersensitivity and transplantation immunity elicited by soluble antigens of chemically induced tumors in inbred guinea-pigs ». *Nature* 1968, **220,** 295-297.

580. Oettgen (H.F.), Aoki (T.), Geering (G.), Boyse (E.A.), Old (L.J.). — « Definition of an antigenic system associated with Burkitt's lymphoma ». *Cancer Research* 1967, **27,** 2532-2533.

581. Oettgen (H.F.), Old (L.J.), Mac Lean (E.P.), Carswell (E.A.). — « Delayed hypersensitivity and transplantation immunity elicited by soluble antigens of chemically induced tumours in inbred guinea-pigs ». *Nature* 1968, **220,** 295.

582. Old (L.J.), Clarke (D.A.), Benacerraf (B.). — « Mengo virus infection in Bacillus Calmette-Guérin or Zymosan-treated mice ». *Fed. Proc.* 1960, **19,** 208.

583. Old (L.J.), Benacerraf (B.), Clarke (D.A.), Carswell (E.A.), Stockert (E.). « The role of the reticuloendothelial system in the host reaction to neoplasia ». *Cancer Research* 1961, **21,** 1281-1301.

584. Old (L.J.), Boyse (E.A.), Bennett (B.), Lilly (F.). — « Cell bound antibodies ». Edit. Amas B. and Kaproksky H., 1963.

585. Old (L.J.), Boyse (E.A.), Stockert (E.). — « Antigenic properties of experimental leukemias. I. : Serological studies in vitro with spontaneous and radiation induced leukemias ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1963, **301.** 977.

586. Old (L.J.), Benacerraf (B.), Carswell (E.). — « Contact reactivity to carcinogenic polycyclic hydrocarbons ». *Nature* 1963, **198,** 1215.

587. Old (L.J.), Boyse (E.A.), Lilly (F.). — « Formation of cytotoxic antibody against leukemias induced by Friend virus ». *Cancer Research* 16, **23,** 1063.

588. Old (L.J.), Boyse (E.A.). — « Immunology of experimental tumors ». *Annu. Rev. Med.* 1964, **15,** 167-186.

589. Old (L.J.), Boyse (E.A.), Stockert (E.). — « The G antigen ». *Cancer Research* 1965, **25,** 813.

590. Old (L.J.), Boyse (E.A.). — « Antigens of tumours and leukemias induced by viruses ». *Fed. Proc.* 1965, **24,** 1009.

591. Old (L.J.), Boyse (E.A.), Geering (G.), Oettgen (M.). — « Serological approaches to the study of cancer in animal and in man ». *Cancer Research* 1968, **28,** 1288.

592. Old (L.J.), Stockert (E.), Boyse (E.A.), Kim (J.M.). — « Antigenic modulation : loss of T.L. antigen from cells exposed to T.L. antibody. Study of the phenomenon in vitro ». *J. Exp. Med.* 1968, **127,** 523.

593. Osler (A.G.). — « Immunologic studies of autochtonous cancer : an evaluation of several procedures ». *Cancer Research* 1961, **21,** 1187-1197.

594. Osoba (D.). — « Cellular cooperation in the primary immune response : the need for a uniform terminology ». *Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol.* 1970, **15,** 929-933.

595. Oth (D.), Burg (C.). — « Action d'une inoculation de B.C.G. à des hybrides F_1 sur le phénomène de préférence syngénique présentée par certaines tumeurs isologues ». *C.R. Soc. Biol.* 1966, **160,** 1644.

596. Oth (D.), Burg (C.). — « Aspect immunologique du rejet de greffes tumorales parentales par des hybrides ». Symposium on "Cell-bound Immunity". With special reference to anti-lymphocyte serum and immunotherapy of cancer. Tige les Spa, 10-13 mai 1967.

597. Oth (D.), Donner (M.), Burg (C.). — « Comparaison de l'immunité induite par plusieurs tumeurs isologues dans leurs souches d'origine et chez les hybrides ». *C.R. Soc. Biol.* 1967, **161**, 862.

598. Oxman (M.N.), Black (P.H.). — « Inhibition of SV 40 antigen formation by interferon ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1966, **55**, 1133.

599. Oxman (M.N.), Varon (S.), Black (P.H.), Takemoto (K.K.), Habel (K.), Rowe (W.P.). — « The effect of interferon on SV 40 antigen production in SV 40 transformed cells ». *Virology* 1967, **32**, 122.

600. Ozanne (B.), Sambrook (G.). — Binding of concanavalin A and wheat germ agglutinin to normal and transformed cells ». *Nature New Biology* 1971, **232**, 156-160.

601. Palm (J.E.). — « Use of zymosan in explorations for optimum conditioning of rats for human tumor transplantation in an experimental chemotherapy programm ». *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.* 1956, **2**, 138.

602. Perey (D.Y.E.), Cooper (M.D.), Good (R.A.). — « Lymphoepithelial tissues of the intestine and differentiation of antibody production ». *Science* 1968, **161**, 265.

603. Perey (D.Y.E.), Cooper (M.D.), Good (R.A.). — « The mammalian homologue of the avian bursa of Fabricius. I. : Neonatal extirpation of Peyer's patch-type lymphoepithelial tissues in rabbits. Method and inhibition of development of humoral immunity ». *Surgery* 1968, **64**, 614.

604. Perey (D.Y.E.), Good (R.A.). — « Experimental arrest and induction of lymphoid development in intestinal lymphoid tissues of rabbits ». *Lab. Invest.* 1968, **18**, 15.

605. Perey (D.Y.E.), Fromel (D.), Good (R.A.). — « Développement du système lymphoïde. Analyse fonctionnelle et perspectives thérapeutiques ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1969, **14**, 925-931.

606. Petersen (W.E.), Campbell (B.). — « Use of protective principles in milk and colostrum in prevention of disease in man and animal ». *Lancet* 1955, **75**, 494-96.

607. Peterson (R.D.A.), Hendrickson (R.), Good (R.A.). — « Reduced antibody forming capacity during the incubation period of passage A leukemia in C_3H mice ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1963, **114**, 517.

608. Peyronel (J.C.). — « Contribution à l'étude du traitement auxiliaire de certains cancers par extraits tumoraux autologues irradiés aux rayons ultraviolets ». Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine, Marseille, 1969.

609. Philips (M.E.), Stetson (C.A.). — « Passive transfer of immunity to sarcoma 1 with serum ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1962, **111**, 265.

610. Piessens (W.F.). — « Evidence for human cancer immunity ». *Cancer* 1970, **26**, 1212-1220.

611. Pilch (Y.H.). — « The antigenicity and immunogenicity of cell-free extracts of chemically induced murine sarcomas ». *Cancer Research* 1968, **28**, 2502-11.

612. Pilch (Y.H.), Rammin (G.K.P.). — « Transfer of tumor immunity with ribonucleic acid ». *Cancer* 1970, **26**, 630-637.

613. Pillemer (L.), Blum (L.), Lepow (I.H.), Ross (O.A.), Todd (E.), Wardlaw (A. C.). — « The properdin system and immunity. I. : Demonstration and isolation of a new serum protein, properdin and its role in immune phenomena ». *Science* 1954, **120**, 279-85.

614. Pinkuss (A.), Kloniger (W.). — « Zur Vaccinationstherapie des Krebses ». *Berl. Klin. Wochenschr.* 1913, **50.**

615. Playfair (J.H.). — « Specific tolerance to sheep erythrocytes in mouse bone marrow cells ». *Nature* 1969, **222**, 882.

616. Pomerat (C.M.), Anigstein (L.). — « Reticulo-endothelial immune serum (R.E.I.S.). I. : Its action on spleen in vitro ». *Tex. Rep. Biol. Med.* 1945, **3**, 122-130.

617. Pomerat (C.M.). — « Reticulo-endothelial immune serum (R.E.I.S.). II. : Preliminary experiments on its stimulating actions on chick heart fragments in vitro ». *Tex. Rep. Biol. Med.* 1945, **3**, 130-141.

618. Prehn (R.T.), Main (J.M.). — « Immunity to methylcholanthrene induced sarcoma ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1957, **18**, 769-778.

619. Prehn (R.T.), Thursh (D.R.). — « In "Mechanisms of immunological tolerance" ». Ed. M. Hasek, A. Lengerova and M. Vojtiskova, 1962.

620. Prehn (R.T.). — « Function of depressed immunologic reactivity during carcinogenesis ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1963, **31**, 791.

621. Prehn (R.T.). — « Tumor specific immunity to non viral tumors ». *Can. Cancer Conf.* 1963, **5**, 287-295.

622. Prehn (R.T.). — « Cancer antigens in tumors induced by chemicals ». *Fed. Proc.* 1965, **24**, 1018.

623. Prehn (R.T.). — « The significance of tumor distinctive histocompatibility antigens ». In "Cross reactivity antigens and neoantigens", Baltimore, 1967, Williams and Wilkins Ed., p. 105.

624. Prehn (R.T.). — « Tumor specific antigen of putatively non viral tumors ». *Cancer Research* 1968, **28**, 1326-1330.

625. Rabson (M.F.). — « Possible role of interferon in determining the oncogenic effect of polyoma virus variants ». *J. Exp. Med.* 1964, **119**, 71.

626. Raff (C.M.). — « Role of thymus-derived lymphocytes in the secondary humoral immune response in mice ». *Nature* 1970, **226**, 1257-1258.

627. Rajewski (K.), Rottlander (E.), Peltre (G.), Muller (B.). — « The immune response to a hybrid protein molecule ». *J. Exp. Med.* 1967, **126**, 581.

628. Ramming (K.P.), Pilch (Y.H.). — « Transfer of tumor-specific immunity with Rna : demonstration by immune cytolysis of tumor cells in vitro ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1970, **45**, 543-554.

629. Rapp (F.), Melnick (J.). — « The footprints of tumor viruses ». *Sci. Amer.* 1966, **214**, 34.

630. Rapp (F.). — « The role of the viral genome in oncogenesis ». *Cancer Research* 1968, **28**, 1832-1834.

631. Rapp (W.). — « The deletion of an organspecific gastric antigen in human gastric carcinoma and gastric disease ». Fourth International Symposium on the Biological Characterisation of Human Tumours. Heidelberg, 1971.

632. Rasmussen (A.F.), Hildeman (W.H.), Sellers (M.). — « Malignancy of polyoma virus infection in mice in relation to stress ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1963, **30**, 101-112.

633. Ratner (A.C.), Waldorf (D.J.), Van Scott (E.J.). — « Alteration of lesions of mycosis fungoides lymphoma by direct imposition of delayed hypersensitivity reactions ». *Cancer* 1968, **21**, 83-88.

634. Raynaud (M.), Kounetzova (B.), Bizzini (B.), Chermann (J.C.). — « Etude de l'effet immunostimulant de diverses espèces de Corynebactéries anaérobies et de leurs fractions ». "Cancer et immunité". Association française pour l'étude du Cancer et Société française d'Immunologie. Paris, 1971 (13-14 octobre).

635. Regelson (W.). — « Prevention and treatment of Friend leukemia virus infection by interferon inducing synthetic poly-anions ». In "The reticuloendothelial system and atherosclerosis". New York, 1967. Ed. N.R. Diluzio and R. Pasletti. Plenum Press.

636. Reiner (J.), Southam (C.M.). — « Evidence of common antigenic properties in chemically induced sarcomas of mice ». *Cancer Research* 1967, **27**, 1243-47.

637. Reiner (J.), Southam (C.M.). — « Further evidence of common antigenic properties in chemically induced sarcomas of mice ». *Cancer Research* 1969, **29**, 1814-1820.

638. Rettere (R.E.), Lelievre (A.). — « Homologies de la bourse de Fabricius ». *C.R. Soc. Biol.* 1913, **74**, 382.

639. Revez (L.). — « Detection of antigenic differences in isologous host-tumour systems by pretreatment with heavily irradiated tumour cells ». *Cancer Research* 1960, **20**, 443-451.

640. Rigby (P.G.). — « The effect of "exogenous" Rna on the improvement of syngeneic tumor immunity ». *Cancer Research* 1971, **31**, 4-6.

641. Risley (E.H.). — « The gilman-coca vaccine emulsion treatment of cancer ». *Boston Med. Surg. J.* 1911, **165**, 784-88.

642. Romsdahl (M.M.), Cox (I.J.). — « Human malignant melanoma antibodies demonstrated by immuno-fluorescence ». *Arch. Surg.* 1970, **100**, 491-497.

643. Roseneau (W.), Morton (D.L.). — « Tumor specific inhibition of growth of methylcholanthrene induced sarcomas "in vivo" and "in vitro" by sensitizied isologous lymphoid cells ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1966, **36**, 825.

644. Rosenau (W.), Moon (H.D.). — « Suppression of immune response to antigenic tumors in isogenic mice by whole-body irradiation ». *Cancer Research* 1967, **27**, 1973.

645. Roswing (T.). — « La thérapeutique non chirurgicale du cancer ». Travaux II[e] Conférence Internationale Cancer, Paris, 1910.

646. Rowe (W.P.), Hartley (J.W.), Estes (J.D.), Huebner (R.J.). — « Studies of mouse polyoma virus infection. I. : Procedures for quantitation and detection of virus ». *J. Exp. Med.* 1959, **109**, 379-391.

647. Rowe (W.P.), Hartley (J.W.), Estes (J.D.), Huebner (R.J.). « Studies of mouse polyoma virus infection. II. : Distribution of antibodies in laboratory mouse colonies ». *J. Exp. Med.* 1959, **109**, 449-462.

648. Rowe (W.P.), Hartley (J.W.), Estes (J.D.), Huebner (R.J.). — « Studies of mouse polyoma virus infection. III. : Evidence for mucoprotein erythrocyte receptors in polyoma virus haemagglutination ». *J. Exp. Med.* 1959, **110**, 81-91.

649. Rubens-Duval (H.). — « La préparation des globulines des tumeurs en vue de leur utilisation thérapeutique ». *Bull. Cancer* 1932, **21**, 646.

650. Sabin (A.B.). — « Phenomena of experimental carcinogenesis by Dna viruses and search for their occurence in man ». Mémoires de l'Académie Royale de Médecine de Belgique, 2e partie, 1966.

651. Sachs (L.), Fogel (M.). — « Polyoma virus synthesis in tumor cells as measured by the fluorescent antibody technique ». *Virology* 1960, **11**, 722-736.

652. Sachs (L.), Medina (D.). — « Polyoma virus mutant with a reduction in tumor formation ». *Nature* 1960, **187**, 715-716.

653. Saffioti (U.). — « Experimental respiratory tract carcinogenesis ». Progress in Experimental Tumor Research, Bâle 1969, Karger Ed.

654. Saracino (R.T.). — « Etat actuel de l'immunothérapie des cancers ». *Monde Médical* 1969, 1556-1566.

655. Schierman (L.W.), Mac Bride (R.A.). — « Adjuvant activity of erythrocyte isoantigens ». *Science* 1967, **156**, 658.

656. Schlagenhauf (G.K.), Guthrie (P.K.), Morris (D.M.). — « The effect of variously treated guinea-pig sera on the survival tissue of AK_2 mice bearing transplanted lymphoid leukemia ». *Tex. Rep. Biol. Med.* 1957, **15**, 418.

657. Schneider (M.), Dore (J.F.). — « Effet de l'injection d'un virus leucémogene murin (Friend) sur les réactions immunitaires de souris sensibles et résistantes à ce virus ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1969, **14**, 1010-1014.

658. Schneider (M.), Cattan (A.), Hayat (M.), Toulemonde (P.). — « L'exploration immunitaire des cancéreux ». *Bull. Cancer* 1967, **54**, 381.

659. Schuster (J.). — « Les virus du groupe Papova ». *Biol. Med.* 1966, **2**, 135-218.

660. Schwartz (S.O.), Spurrier (W.), Schoolmann (H.M.). — « Studies in leukemia X passive immunization of C_3H mice ». *J. Lab. Clin. Med.* 1959, **54**, 562.

661. Schwartz (D.). — « Les méthodes de recherche en épidémiologie ». *Bull. INSERM* 1966, **21**, 25.

662. Schwartz (D.), Lasserre (O.), Flamant (R.), Lelouch (J.). — « Alcool et cancer. Etude de pathologie géographique portant sur 19 pays ». *Europ. J. Cancer* 1966, **2**, 367.

663. Schwartz (R.S.), Beldotti (L.). — « Malignant lymphomas following allogenic disease : transition from an immunological to a neoplastic disorder ». *Science* 1965, **149**, 1511.

664. Schwartz (D.B.), Zbar (B.), Gibson (T.), Chirigos (M.). — « Inhibition of murine sarcoma virus oncogenesis with living B.C.G. ». *Int. J. Cancer* 1971, **8**, 320-325.

665. Schwarzenberg (L.), Mathé (G.), Amiel (J.L.), Cattan (A.), Schneider (M.), Schlumberger (J.R.). — « Adoptive immunotherapy by transfusions of leucocytes ». *Lancet* 1965, **4**, 365.

666. Sedaillian (J.P.), Triau (R.). — « Principes d'une immunothérapie anticancéreuse à partir d'extraits embryonnaires ». *Lyon Méd.* 1968, **220**, 101-124.

667. Sekiguchi (M.), Mery (A.M.), Brezin (C.), Vaubel (W.E.). — « Une méthode simple et rapide de greffe de peau chez la souris ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1966, **11**, 203.

668. Sekla (B.), Holeckova (E.). — « Diathelic immunization of sheep against a rat cancer ». *Nature* 1960, 185, 618.

669. Sekla (B.), Holeckova (E.). — « Production of antitumour factors in homologous and heterologous immune systems ». *Acta. Un. Int. Cancer.* 1962, **18**, 76-82.

670. Seligmann (M.), Fudenberg (H.H.), Good (R.A.). — « A proposed classification of primary immunologic deficiencies ». *Amer. J. Med.* 1968, **45**, 817.

671. Sercarz (E.), Coons (A.H.). — « Specific inhibition of antibody formation during immunological paralysis and unresponsiveness ». *Nature* 1959, **184**, 1080.

672. Serre (A.), Chalmin (C.), Romieu (C.). — « Etudes de certains facteurs non spécifiques de l'immunité au cours des processus néoplasiques ». *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 1969, **9**, 1025-1028.

673. Shaw (R.K.), Szwed (C.), Roggs (D.R.), Fahey (J.L.), Frei (E.), Morrison (E.), Utz (J.P.). — « Infection and immunity in chronic lymphocytic leukemia ». *Arch. Int. Med.* 1960, **106**, 467.

674. Shirodkar (M.V.). — « The blocking effect of West Nile virus on production of sarcoma by Rous virus in chickens ». *J. Immunol.* 1965, **95**, 1121.

675. Sjogren (H.O.). — « Further studies on the induced resistance against isotransplantation of polyoma tumors ». *Virology* 1961, **15**, 214-219.

676. Sjogren (H.O.), Hellstrom (I.), Klein (G.). — « Resistance of polyoma virus immunized mice to transplantation of established polyoma tumors ». *Exp. Cell Research.* 1961, **23**, 204-208.

677. Sjogren (H.O.), Hellstrom (I.), Klein (G.). — « Transplantation of polyoma virus induced tumors in mice ». *Cancer Research* 1961, **113**, 329-337.

678. Sjogren (H.O.), Ringertz (N.). — « Histopathology and transplantability of polyoma-induced tumors in strain A/Sn and three coisogenic resistant (I.R.) substrains ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1962, **28**, 859-896.

679. Sjogren. — « Studies of the interaction between polyoma virus and its host animal ». *Acta Clin. Int. Cancer* 1963, **19**, 330-331.

680. Sjogren (H.O.). — « Studies on specific transplantation resistance to polyoma-virus induced tumors. I. : Transplantation resistance induced by polyoma virus infection ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1964, **32**, 361-374.

681. Sjogren (H.O.). — « Studies on specific transplantation resistance to polyoma-virus induced tumors. II. : Mechanism of resistance induced by polyoma virus infection ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1964, **32**, 375-393.

682. Sjogren (H.O.). — « Studies on specific transplantation resistance to polyoma virus-induced tumors. III. : Transplantation resistance to genetically compatible polyoma tumors induced by polyoma tumor homografts ». *J. Nat. Canc. Inst.* 1964, **32**, 645-659.

683. Sjogren (H.O.). — « Studies on specific transplantation resistance to polyoma virus-induced tumors. IV. : Stability of the polyoma cell antigen ». *J .Nat. Cancer Inst.* 1964, **32,** 661-666.

684. Sjogren (H.O.). — « Transplantation methods as a tool for detection of tumor specific antigens ». *Prog. Exp. Tumor Res.* 1965, **6,** 289-322.

685. Sjogren (H.O.), Hellstrom (I)., Bansal (S.C.), Hellstrom (K.E.). — « Suggestive evidence that the "blocking antibodies" of tumor-bearing individuals may be antigen-antibody complexes ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1971, **68,** 1372-1375.

686. Sjogren (H.O.), Borum (K.). — « Tumor-specific immunity in the course of primary polyoma and Rous tumor development in intact immunosupressed rats ». *Cancer Research* 1971, **31,** 890-900.

687. Skapier (J.). — « Therapeutic use of antireticular cytotoxic serum (A.C.S.) in Hodgkin's disease ». *Cancer Research* 1947, **7,** 369-371.

688. Skurkovich (S.V.), Kisljak (N.S.), Machonova (L.A.), Begunenko (S.A.). — « Active immunization of children suffering from acute leukaemia in acute phase with "live" allogenic leukaemic cells ». *Nature,* 1969, **223,** 509-511.

689. Skurkovich (S.V.), Machanova (L.A.), Rezichenko (F.M.), Chervonskiy (G.I.). « Treatment of children with acute leukemia by passive cyclic immunization with autoplasma and autoleucocytes operated during the remission period ». *Blood* 1969, **33,** 186-197.

690. Smith (R.T.). — « Tumor specific immune mechanisms ». *New Engl. J. Med.* 1968, **278,** 1207-1214.

691. Smith (R.T.). — « Tumor-specific immune mechanisms (concluded) ». *New Engl. J. Med.* 1968, **278,** 1326-1331.

692. Snell (G.D.). — « Incompatibility reaction to tumor homotransplants with particular reference to role of tumor : a review ». *Cancer Research* 1957, **17,** 2-10.

693. Solowey (A.C.), Rapaport (F.T.). — « Immunologic responses in cancer patients ». *Surg. Forum* 1965, **16,** 100-101.

694. Solowey (A.C.), Rapaport (F.T.). — « Immunologic responses in cancer patients ». *Surgery* 1965, **121,** 756.

695. Soren (L.). — « Immunological reactivity of lymphocytes in multiparous females after strain specific matings ». *Nature* 1967, **213,** 621-622.

696. Sorkin (E.). — « Theoretical basis for desensitization ». *Med. Thorac.* 1967 **24,** 3-16.

697. Southam (C.M.), Pillemer (L.). — « Serum properdin levels and cancer cell homografts in man ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1957, **96,** 596.

698. Southam (C.M.). — « Studies of properdin in cancer patients ». *J. Clin. Invest.* 1958, **37,** 933.

699. Southam (C.M.), Tai (M.), Greene (E.L.). — « Studies of the properdin system in human cancer cell cultures ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1959, **102,** 67.

700. Southam (C.M.). — « Relationships of immunology to cancer : a review ». *Cancer Research* 1960, **20**, 271-291.

701. Southam (C.M.). — « Application of immunology to clinical cancer. Past attempts and future possibilities ». *Cancer Research* 1961, **21**, 1302-1317.

702. Southam (C.M.). — « Evidence of immunological reactions to autochtonous cancer in man ». *Europ. J. Cancer* 1965, **1**, 173-181.

703. Southam (C.M.). — « The immunologic status of patients with non lymphomatous cancer ». *Cancer Research* 1968, **28**, 1433-1440.

704. Southam (C.M.). — « Co-existence of allogeneic tumour growth and homograft immunity in man ». *Europ. J. Cancer* 1968, **4**, 507-511.

705. Southam (C.M.), Marcove (R.C.), Levin (A.G.), Buchsbaum (H.J.), Mike (V.). « Clinical trial of autogenous tumor vaccine for treatment of osteogenic sarcoma ». Preprint 1970.

706. Spicer (D.S.), Priester (L.I.), Smith (E.V.C.), Sanders (B.E.). — « Properdin : preparation from plasma fraction 1 of the Cohn method ». *J. Biol. Chem.* 1959, **234**, 838-840.

707. Stammler (R.). — « Behandlung bösartiger Geschwülste mit dem eigenen Tumor Extract mit Demonstration eines geheilten Falles ». *Verhandl. Deutsch. Ges. Chir.* 1913, **42**, 49-51.

708. Stewart (S.E.). — « Neoplasms in mice inoculated with cell-free extracts or filtrates of leukemic mouse tissues. I. : Neoplasms of the parotid and adrenal glands ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1955, **4**, 1391-1415.

709. Stewart (S.E.), Eddy (B.E.). — « Properties of a tumor inducing virus recovered from mouse neoplasms ». Perspectives in Virology. New York 1958, John Wiley and son Ed., p. 245.

710. Stewart (S.E.), Eddy (B.E.), Borgese (N.). — « Neoplasms in mice inoculated with a tumor agent carried in tissue cultures ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1958, **20**, 1223-1243.

711. Stewart (H.L.), Snell (K.C.), Dunham (L.J.), Schlyen (S.M.). — « Transplantable and transmissible tumors of animals ». Washington, Armed Forces Institute of Pathology Ed.

712. Stewart (S.E.). — « The polyoma virus ». Advances in Virus Research. Acad. Press 1960, **7**, 61.

713. Stewart (T.H.M.), Tolnai (G.). — « The regression of an inflammatory skin lesion by the induction of a delayed hypersensitivity reaction. A case report ». *Cancer* 1969, **24**, 117-121.

714. Stjernsward (J.). — « Immunodepressive effect of 3 methylcholanthrene. Antibody formation at the cellular level and reaction against weak antigenic homografts ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1965, **35**, 885.

715. Stjernsward (J.). — « Effect of BCG and/or methylcholanthrene on the antibody forming cells measured at the cellular level by a hemolytic plaque test ». *Cancer Research* 1966, **26**, 1591.

716. Stjernsward (J.). — « Effect on non-carcinogenic and carcinogenic hydrocarbons on antibody forming cells measured at the cellular level "in vitro" ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1966, **36**, 1189.

717. Stoker (M.), Mac-Pherson (I.). — « Studies on transformation of hamster cells by polyoma virus in vitro ». *Virology* 1961, **14**, 359-370.

718. Stoker (M.). — « Characteristics of normal and transformed clones arising from BHK21 cells exposed to polyoma virus ». *Virology* 1962, **10**, 649-651.

719. Stoker (M.), Abel (P.). — « Conditions affecting transformation by polyoma virus ». *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1962, **27**, 375-386.

720. Stoker (M.). — « Mechanisms of viral carcinogenesis ». Can. Canc. Conf. 1966, **6**, 357-368.

721. Stoker (M.). — « The mechanisms of oncogenesis by polyoma and related viruses ». *Mem. Acad. Roy. Bel.* 1966, **6**, 47-60.

722. Stoker (M.), Shearer (M.), O'Neill (C.H.). — « Growth inhibition of polyoma transformed cells by contact with static normal fibroblasts ». *J. Cell Sci.* 1966, **1**, 297-310.

723. Stoker (M.). — « Active transformation by polyoma virus ». *Nature* 1968, **218**, 234-238.

724. Stone (H.B.), Curtis (R.M.), Brewer (J.H.). — « Can resistance to cancer be induced ? ». *Ann. Surg.* 1951, **134**, 519-528.

725. Stone (S.H.). — « Mécanismes de l'exaltation de l'antigénicité par les adjuvants ». "L'Antigénicité", collection de l'Institut Pasteur, 1963, **1**, 83.

726. Straus (R.). — « Studies on antireticular cytotoxic serum. I. : Introduction and review of the literature ». *J. Immunol.* 1946, **54**, 151-154.

727. Straus (R.), Horowitz (M.), Levinthal (D.H.), Cohen (A.L.), Runjavac (M.). « Studies on antireticular cytotoxic serum. III. : Effects of ACS on the healing of experimentally produced fractures in rabbits ». *J. Immunol.* 1946, **54**, 164-177.

728. Stutman (O.). — « Carcinogen-induced immune depression : absence in mice resistant to chemical oncogenesis ». *Science* 1969, **166**, 620.

729. Summer (W.C.), Foraker (A.G.). — « Spontaneous regression of human melanoma ; clinical and experimental studies ». *Cancer* 1960, **13**, 79-81.

730. Svet-Modalvsky (G.B.), Mkheisze (D.M.), Liozmer (A.L.). — « Two phenomena associated with skin grafting from tumor-bearing syngenic donors ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1967, **38**, 933.

731. Symes (M.O.), Riddel (A.G.), Immelman (E.J.), Terblanche (J.). — « Immunologically competent cells in the treatment of malignant disease ». *Lancet* 1968, **1**, 1054-1058.

732. — « Symposia series in immunological standardization ». International symposium on adjuvants of immunity. Bâle 1967, Karger Ed.

733. Tai (C.), Halasz (N.A.). — « Histocompatibility antigen transfer in utero : tolerance in progeny and sensitization in mother ». *Science* 1968, **158**, 125-126.

734. Takeda (K.), Aizawa (M.), Kiyuchi (Y.), Yamawaki (J.), Nakamura (K.). — « Tumor autoimmunity against methylcholanthrene induced sarcomas of the rat ». *Gann* 1966, **57**, 221.

735. Talmage (D.W.), Radovich (J.), Hemmingsen (H.). — « Cell interaction in antibody synthesis ». *Advan. Immunol.* 1970, **12**, 271.

736. Tanaka (K.), Tanaka (A.), Sugiyama (K.). — « Immunological adjuvants. I. : Adjuvant activity and immunogenicity of acetylated wax D and its subfractions ». *Int. Arch. Allergy* 1968, **34**, 495.

737. Taylor (R.B.). — « Cooperation in the antibody response in mice to serum albumine ; function of thymus cells ». *Transplantation* 1969, **1**, 114.

738. Teimourian (B.), Mc Cune (W.S.). — « Surgical management of malignant melanoma ». *Amer. Surg.* 1963, **29**, 515-523.

739. Temin (H.M.). — « The role of the Dna provirus in carcinogenesis by Rna tumor viruses ». Lepetit Colloquia on Biology and Medecine. II. : The Biology of Oncogenic Viruses 1970, Silvestri L.G. ed., p. 176-187.

740. Tevethia (S.A.), Katz (M.), Rapp (F.). — « New surface antigen in cells transformed by simian papovavirus ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1965, **119**, 896-901.

741. Thomas (E.D.), Lochte (H.L.), Lu (W.C.), Ferrebee (J.W.). — « Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy ». *New Eng. J. Med.* 1957, **257**, 491.

742. Thomson (J.S.). — « An "in vitro" study of antileukemic serum ». *Blood* 1955, **10**, 1228.

743. Todaro (G.J.), Baron (S.). — « The role of interferon in the inhibition of SV 40 transformation of the mouse cell line 3T3 ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1965, **54**, 752.

744. Todaro (G.J.), Aaronson (S.A.), Scolnick (E.M.), Parks (W.P.). — « Rna dependant Dna polymerase in viruses and in cells ». Lepetit Colloquia on Biology and Medecine. II. : The Biology of Oncogenic Viruses 1970, Silvestri L.G. ed., p. 205-209.

745. « Treatment of Burkitt's tumour ». Monographie de l'U.I.C.C., Berlin 1967 (Springer Verlag Ed.).

746. Trentin (J.J.). — « Whole body X ray and bone marrow therapy of leukemia in mice ». *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.* 1957, **2**, 256.

747. Trouillas (P.), Lapras (C.). — « L'immunothérapie cellulaire des glioblastomes cérébraux ». *J. Méd. Lyon* 1969, **1172**, 1269-1290.

748. Unanue (E.R.), Cerottini (J.C.). — « The function of macrophages in the immune response ». Seminars in Hematology 1970, **7**, 225.

749. Uriel (J.). — « Transitory liver antigens and primary hepatoma in man and rat ». *Path. Biol.* 1969, **17**, 877-884.

750. Vaage (J.). — « Nonvirus-associated antigens in virus-induced mouse mammary tumors ». *Cancer Research* 1968, **28**, 2477.

751. Vandeputte (M.), Lafonteyne (J.), Billiau (A.), de Somer (P.). — « Influence and production of interferon in Rauscher virus-infected mouse ». *Arch. ges. Virusforsch.* 1967, **20**, 235.

752. Vandeputte (M.). — « Deuxième réunion des Oncovirologistes à Adn de langue française ». 1971, Bendor, 1, 2, 3 octobre.

753. Van Rood (J.J.), Van Leeuwen (A.), Schippers (A.), Balner (H.). — « Human histocompatibility antigen in normal and neoplastic tissues ». *Cancer Research* 1968, **28**, 1415-1422.

754. Vaughan (J.W.). — « Blood-changes caused by the hypodermic administration of the cancer proteid ». *J. Amer. Med. Ass.* 1912, **59**, 1764-1769.

755. Vaughan (J.W.). — « Cancer vaccine and anticancer globulins as an aid in surgical treatment of malignancy ». *J. Amer. Med. Ass.* 1914, **63**, 1258-1269.

756. Vial (A.B.), Callahan (W.). — « The effect of some tagged antibodies on human melanoblastoma ». *Cancer* 1957, **10**, 999-1003.

757. Vidal (E.). — « Les sérothérapies des tumeurs malignes ». Travaux de la deuxième conférence internationale pour l'étude du cancer. Paris, 1910, 293-342.

758. Viza (D.C.), Degrani (O.), Bernard (C.), Harris (R.). — « Leukemia antigens ». *Lancet* 1969, **2**, 493.

759. Vogt (M.), Dulbecco (R.). — « Steps in the neoplastic transformation of hamster embryo cells by polyoma virus ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1963, **49**, 171-179.

760. Voisin (G.A.), Kinsky (R.G.), Maillard (J.). — « Réactivité immunitaire et anticorps facilitants chez les animaux tolérants aux homogreffes ». *Ann. Inst. Pasteur* 1968, **115**, 855.

761. Voisin (G.A.). — « Le phénomène de facilitation immunologique ». Cours d'immunologie générale et de sérologie de l'Institut Pasteur, 1968, **6**, 57-76.

762. Von Kleist (S.), Burtin (P.). — « Mise en évidence dans les tumeurs coliques humaines d'antigènes non présents dans la muqueuse de l'adulte normal ». *C.R. Acad. Sci.* 1966, **263**, 1543-1546.

763. Von Kleist (S.), Collatz (E.), Burtin (P.). — « Study of circulating antibodies in colon cancer patients'sera and their corresponding antigens ». Fourth International Symposium on the Biological Characterisation of Human Tumours. Heidelberg, 1971.

764. Vorlaender (K.O.). — « Zellulartherapie ». *Deutsche Med. Wochenschr.* 1960, **85**, 1337-4122.

765. Wallach (D.F.H.). — « Cellular membranes and tumor behaviour : a new hypothesis ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1968, **61**, 868.

766. Wahren (B.). — « Cytotoxic and other immunologic studies of leukemia induced by Friend virus ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1963, **31**, 411.

767. Warner (N.L.), Szenberg (A.), Burnett (F.M.). — « The immunological role of different lymphoid organs in the chicken. I. : Dissociation of immunological responsiveness ». *Aust. J. Exp. Biol.* 1962, **40**, 373.

768. Warner (N.L.) — « The immunological role of the avian thymus and bursa of Fabricius ». *Folia Biol.* 1967, **13**, 1.

769. Weinstein (A.), Gazdar (A.F.), Sims (H.L.), Levy (H.B.). — « Lack of correlation between interferon induction and antitumour effect of Poly I — Poly C ». *Nature New Biology* 1971, **231**, 53-54.

770. Weiss (D.W.), Bonhag (B.S.), de Omek (B.). — « Protective activity of fractions of tubercle bacilli against isologous tumours in mice ». *Nature* 1961, **190**, 889-891.

771. Weissman (J.L.). — « Thymus cell migration ». *J. Exp. Med.* 1967, **126**, 291.

772. Wepsic (H.T.), Kronman (B.S.), Zbar (B.). — « Immunotherapy of an intramuscular tumour in strain - 2 - guinea pigs : prevention of tumour growth by intradermal immunization and by systemic transfer of tumor immunity ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1970, **45**, 377-386.

773. Wheelock (E.F.), Dingle (J.H.). — « Observations on the repeated administration of viruses to a patient with acute leukemia. A preliminary report ». *New Engl. J. Med.* 1964, **271**, 645.

774. Wheelock (E.F.). — « Inhibition of virus induced leukemia in mice by a non-tumor virus ». *Nat. Cancer Inst. Monographs*, 1965.

775. Wheelock (E.F.). — « The effect of non-tumor viruses on virus induced leukemia in mice : reciprocal interference between Sendai virus and Friend leukemia in DBA/2 mice ». *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1966, **55**, 774.

776. Wheelock (E.F.). — « Inhibitory effects of Sendaï virus on Friend virus leukemia in mice ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1967, **38**, 771.

777. Wheelock (E.F.), Larke (R.P.B.). — « Efficacy of interferon in the treatment of mice with established Friend virus leukemia ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1968, **127**, 230.

778. White (R.G.), Jolles (P.), Samour (D.), Lederer (E.). — « Correlation of adjuvant activity and chemical structure of adjuvant fractions of mycobacteria ». *Immunology* 1964, **7**, 158.

779. White (R.G.). — « In "Molecular and cellular basis of antibody formation" ». J. Sterzl, Czechoslavak. Prague 1965, Acad. Sci. ed.

780. Willemen-Clag (L.), Cavanor (M.), Menut (G.), Raynaud (J.E.). — « La maladie de Burkitt hors d'Afrique ». *Nouv. Rev. Fr. Hématol.* 1967, **7**, 367.

781. Williams (J.F.), Till (J.E.). — « Transformation of rat embryo cells in culture by polyoma virus ». *Virology* 1964, **24**, 505-508.

782. Williams (A.C.), Klein (E.). — « Experiences with local chemotherapy and immunotherapy in premalignant and malignant skin lesions ». *Cancer*, 1970, **25**, 450-462.

783. Wilson (D.B.), Wecker (E.E.). — « Quantitative studies on the behavior of sensitized lymphoïd cells in vitro. III. : Conversion of "normal" lymphoïd cells to an immunologically active status with Rna derived from isologous lymphoïd tissues ». *J. Immunol.* 1966, **97**, 512.

784. Wilson (R.E.), Hager (E.B.), Hampers (C.L.), Corson (J.M.), Merrill (J.P.), Murray (J.E.). — « Immunologic rejection of human cancer transplanted with a renal homograft ». *New Engl. J. Med.* 1968, **278**, 479-483.

785. Withebsky (E.), Rose (N.R.), Shulman (S.). — « Studies of normal and malignant tissue antigens ». *Cancer Research* 1956, **16**, 831-841.

786. Wolf (A.). — « The activity of cell-free tumour fractions in inducing immunity across a weak histocompatibility barrier ». *Transplantation* 1969, **7**, 49.

787. Wolf-Eisner (A.). — « Handbuch der experimentellen Therapie und Chemiotherapie. Chapter VII. Die Immunotherapie und Chemotherapie der maligner Geschwülste ». 1926, München, J.-F. Dehmanns, 588-602.

788. Woodruff (M.F.A.), Symes (M.O.). — « The use of immunologically competent cells in treatment of cancer with a transplantable mouse tumor ». *Brit. J. Cancer* 1962, **16**, 707-718.

789. Woodruff (M.F.A.), Nolan (B.). — « Preliminary observations on treatment of advanced cancer by injection of allogenic spleen cells ». *Lancet* 1963, **2**, 426-429.

790. Woodruff (M.F.A.), Boak (J.L.). — « Inhibitory effect of injection of Corynebacterium parvum on the growth of tumour transplants in isogenic hosts ». *Brit. J. Cancer* 1966, **20**, 345.

791. Youn (J.K.), Barski (G.), Hupfert (J.). — « Inhibition de la leucémogénèse virale chez la souris par traitement avec polynucléotides synthétiques ». *C.R. Acad. Sci.* 1968, **267**, 816.

792. Zeleznick (L.D.), Bhuyan (B.K.). — « Treatment of leukemic (L. 1210) mice with double stranted polyribonucleotides ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1969, **130**, 126.

793. Zilber (L.A.). — « Studies on tumor antigens ». *J. Nat. Cancer Inst.* 1957, **18**, 341.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION. 31

HISTORIQUE. 33

PREMIERE PARTIE. 39

I. — Les bases 41

A. L'antigénicité des cellules cancéreuses : 43

a) la notion de néoantigène ; 43

b) les différents néoantigènes ; 44

c) remarques ; 45

d) nature des néoantigènes. 46

B. La réaction de l'hote : 47

a) les mécanismes généraux de l'immunité ; 47

b) réactions de l'hôte contre sa tumeur. 49

C. Place de l'immunothérapie dans l'ensemble de la thérapeutique anticancéreuse : 52

a) action sur les agents carcinogènes ; 52

b) action sur les cellules tumorales ; 53

c) éventuelles thérapeutiques d'avenir. 54

II. — Les modalités 55

Différents types d'immunothérapies 57

A. *Immunothérapie passive :* 57

a) immunothérapie passive non spécifique ; 57

b) immunothérapie passive spécifique. 57

B. *Immunothérapie adoptive :* 59

a) immunothérapie adoptive non spécifique ; 59

b) immunothérapie adoptive spécifique. 59

C. *Immunothérapie active :* 62

a) immunothérapie active non spécifique ; 62

b) immunothérapie active spécifique. 66

DEUXIEME PARTIE. 71

I. — **Le matériel utilisé** 73

A. Les animaux : 75

a) Hamster ; 75

b) Souris AKR. 75

B. Le virus polyome. 76

C. Les cellules tumorales : 76

a) cellules tumorales S 724 : 76

— obtention de la tumeur ; 76

— transplantabilité ; 80

— histologie : 81

• tumeur primaire S 724 ; 81

• tumeurs transplantables ; 82

— étude cytologique ; 83

— étude ultrastructurale ; 85

— étude cytogénétique ; 88

— caractères immunologiques ; 93

— calcul de la dose tumorale 50 %. 94

b) cellules tumorales CT_{54} ; 95

c) cellules tumorales ST_{Py}. 96

II. — **Les expériences réalisées** 99

A. Protection xénogénique du hamster contre la tumeur CT_{54}. 101

B. Protection de la souris AKR contre la tumeur S 724. 105

C. Essai d'immunothérapie après tumorectomie dans le système souris AKR-tumeur S 724. 107

D. Influence du temps de latence sur la réaction de rejet de greffe par le virus polyome. 110

E. Essai d'immunothérapie par le virus polyome dans le systeme hamster-tumeur ST_{Py}. 112

F. Discussion. 115

CONCLUSIONS. 119

BIBLIOGRAPHIE. 123

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate,

Je promets et je jure, au nom de l'Etre Suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leur père.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes Confrères si j'y manque.